



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA SOCIAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA



TESE DE DOUTORADO

***ESPESSURA DO COMPLEXO MÉDIO-INTIMAL CAROTÍDEO: INFLUÊNCIA  
DAS CONDIÇÕES DE NASCIMENTO, DO CRESCIMENTO ACELERADO NA  
INFÂNCIA, DA AMAMENTAÇÃO E DOS FATORES DE RISCO PARA  
DOENÇAS CARDIOVASCULARES AOS 30 ANOS NA COORTE DE 1982 EM  
PELOTAS, RS, BRASIL***

**Rogério da Silva Linhares**

**Pelotas, 2015**

Rogério da Silva Linhares

Espessura do complexo médio-intimal carotídeo: influência das condições de nascimento, do crescimento acelerado na infância, da amamentação e dos fatores de risco para doenças cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas, RS, Brasil

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Epidemiologia.

Dr. Bernardo Lessa Horta

Pelotas, 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R735e Linhares, Rogério da Silva  
Espessura do complexo médio-intimal carotídeo : influência das condições de nascimento, do crescimento acelerado na infância, da amamentação e dos fatores de risco para doenças cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas, RS, Brasil / Rogério da Silva Linhares ; orientador Bernardo Lessa Horta. - Pelotas, 2015. 193 f.

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

1. Epidemiologia. 2. Aterosclerose. 3. Espessura do complexo médio-intimal carotídeo. 4. Crescimento. 5. Amamentação. I. Horta, Bernardo Lessa, orient. II.Título.

CDD: 614.4

## **Rogério da Silva Linhares**

Espessura do complexo médio-intimal carotídeo: influência das condições de nascimento, do crescimento acelerado na infância, da amamentação e dos fatores de risco para doenças cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas, RS, Brasil

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Epidemiologia, Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade Medicina, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 16/06/2015

Banca examinadora:

Prof. Dr. Bernardo Lessa Horta (Orientador)

Doutor em Epidemiologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Fernando César Wehrmeister

Doutor em Epidemiologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Juvenal Soares Dias da Costa

Doutor em Ciências Médicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Lucia Campos Pellanda

Doutora em Ciências da Saúde pelo Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul/Fundação Universitária de Cardiologia

Dedico este trabalho à Deus, aos meus pais (Jorge e Catarina),  
à minha esposa (Angélica), e ao meu filho (Tiago).

*“C'est le temps que tu as perdu pour ta rose qui fait ta rose si importante!”*

*(extrait du Petit Prince d'Antoine de Saint-Exupéry)*

“Foi o tempo que dedicaste à tua rosa que a fez tão importante!”

(extraído de “O Pequeno Príncipe” de Antoine de Saint-Exupéry)

## **Agradecimentos**

À Deus pelo dom da vida, pela Graça de vencer os obstáculos e por me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar.

Aos meus pais, Jorge e Catarina, pelo exemplo de família, pelos valores cristãos, pelo apoio e por me darem condições para que eu buscasse os meus objetivos.

À minha esposa Angélica, meu grande amor, que sempre me incentivou ao estudo e compreendeu o esforço que dediquei ao mestrado e doutorado.

Ao meu filho Tiago, meu maior tesouro, que chegou durante o curso desta jornada, que serviu de exemplo de luta pela vida devido a um Bloqueio Átrio-Ventricular Total congênito e que me torna uma pessoa melhor e mais feliz a cada dia.

Ao meu orientador Bernardo, pelo exemplo, pelo apoio e inspiração no amadurecimento desta Tese de forma tranquila e com muita competência.

A todos os demais professores do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia e funcionários do Centro de Pesquisas Epidemiológicas da UFPel.

A todos os colegas de doutorado, alguns desde o mestrado.

A todos os colegas professores do Departamento de Medicina Social.

A todos que colaboraram durante o trabalho de campo da coorte de 1982, em especial na medida da carótida.

Obrigado.

## **Apresentação**

Esta Tese é requisito para conclusão do curso de doutorado em Epidemiologia de Rogério da Silva Linhares, que teve como orientador o Prof. Dr. Bernardo Lessa Horta, do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas.

A presente tese avaliou as relações entre a espessura do complexo médio-intimal carotídeo, um preditor do processo de aterosclerose, medido por ultrassom, e as condições de nascimento, crescimento acelerado na infância, amamentação e fatores de risco cardiovasculares metabólicos (dosagem sérica de glicose, triglicerídeos, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-total, do índice de massa corporal e da pressão arterial) e comportamentais (dieta, sedentarismo, tabagismo e ingestão de bebidas alcoólicas) na Coorte de Nascimentos de 1982 de Pelotas, RS.

A Tese é composta de oito partes: 1) apresentação; 2) projeto de pesquisa; 3) modificações do projeto; 4) relatório de trabalho de trabalho de campo; 5) artigos; 6) matéria para a imprensa; 7) conclusões gerais; 8) anexos.

Os artigos apresentados para a banca estão descritos a seguir:

Artigo original 1: Título: “Amamentação e espessura do complexo médio-intimal carotídeo: revisão sistemática e meta-análise”. Artigo a ser submetido à revista Cadernos de Saúde Pública.

Artigo original 2: Título: - “Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo aos 30 anos, peso de nascimento, crescimento acelerado na infância e amamentação: um estudo de coorte no Sul do Brasil”. Artigo publicado na revista PLOS ONE em 22 de janeiro de 2015.

Artigo original 3: Título: “Espessura do complexo médio-intimal carotídeo e fatores de risco cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas”. Artigo a ser submetido à revista PLOS ONE.



## Resumo

LINHARES, Rogério da Silva. **Espessura do complexo médio-intimal carotídeo: influência das condições de nascimento, do crescimento acelerado na infância, da amamentação e dos fatores de risco para doenças cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas, RS, Brasil.** 2015. 193f. Tese (Doutorado em Epidemiologia) – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, 2015.

O presente estudo avaliou as relações entre a espessura do complexo médio-intimal carotídeo, um preditor do processo de aterosclerose, medido por ultrassom, e as condições de nascimento, crescimento acelerado na infância, amamentação e os fatores de risco cardiovasculares metabólicos (índice de massa corporal, pressão arterial, e dosagem sérica de glicose, triglicerídeos, colesterol-HDL, colesterol-LDL e colesterol-total,) e comportamentais (dieta, sedentarismo, tabagismo e ingestão de bebidas alcoólicas) na Coorte de Nascimentos de 1982 de Pelotas, RS. A espessura da carótida aos 30 anos foi positivamente associada com o peso-idade e peso-altura em escore z aos dois anos, peso-altura, altura-idade e peso-idade em escore z aos quatro anos e o ganho de peso condicional dos dois aos quatro anos. O consumo de tabaco e os fatores metabólicos de risco cardiovascular (índice de massa corporal, pressão arterial, glicemia e lipídeos) estiveram associados com a espessura do complexo médio-intimal carotídeo aos 30 anos.

**Palavras-chave:** espessura do complexo médio-intimal carotídeo; peso de nascimento; crescimento; amamentação; aterosclerose; doença cardiovascular

## Abstract

LINHARES, Rogério da Silva. **Carotid Intima-Media Thickness: influence of birth conditions, accelerated growth in infancy, breastfeeding and risk factors for cardiovascular disease at age 30 in the 1982 cohort in Pelotas, RS, Brasil.** 2015. Thesis (Doctoral Thesis). Postgraduate Program in Epidemiology, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil, 2015.

This study evaluated the relationship between carotid intima-media thickness, a predictor of atherosclerosis, measured by ultrasound, and the conditions of birth, accelerated growth during infancy, breastfeeding and metabolic cardiovascular risk factors (body mass index, blood pressure, serum glucose, triglycerides, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and total-cholesterol) and behavioral (diet, sedentary lifestyle, smoking and alcohol) in the 1982 Cohort in Pelotas, Brazil. Carotid intima-media thickness at age 30 was positively associated with weight-for-age z-score at age 2 years, height-for-age z-score at age 2 years, weight-for-height z-score at age 4, height-for-age z-score at age 4, weight-for-age z-score at age 4 and conditional weight gain at age 4 years. The consumption of tobacco and metabolic cardiovascular risk factors (body mass index, blood pressure, blood glucose and lipids) were associated with carotid intima-media thickness.

**Key-words:** carotid intima-media thickness; birth weight; growth; breastfeeding; atherosclerosis; cardiovascular disease

## Sumário

Apresentação .....	7
Resumo .....	8
Sumário .....	10
Projeto de pesquisa .....	13
Resumo do projeto .....	14
Página com os títulos dos três artigos da tese .....	15
Definição de termos e abreviaturas .....	16
1. Introdução .....	18
1.1. Doença cardiovascular .....	18
1.2. Aterosclerose .....	19
1.3. Medida da espessura do complexo médio-intimal carotídeo .....	19
1.4. Revisão de literatura .....	22
1.4.1. Fatores perinatais e dos primeiros anos de vida .....	22
1.4.1.1 Efeito de alguns fatores de risco perinatais .....	22
1.4.1.2. Efeito do peso ao nascer .....	23
1.4.1.3. Efeitos do “catch-up” .....	24
1.4.1.4. Efeito da amamentação .....	27
1.4.2. Efeito dos fatores de risco cardiovasculares contemporâneos .....	28
Fatores de risco comportamentais .....	29
1.4.2.1. Tabaco .....	29
1.4.2.2. Inatividade física .....	30
1.4.2.3. Dieta não saudável .....	31
1.4.2.4. Uso nocivo do álcool .....	32
Fatores de risco metabólicos .....	34
1.4.2.5. Aumento da pressão arterial .....	34
1.4.2.6. Aumento da glicemia .....	36
1.4.2.7. Aumento dos lipídeos sanguíneos .....	37
1.4.2.8. Sobrepeso e Obesidade .....	39
1.4.2.9. Obesidade abdominal .....	40
2. Justificativa .....	42
3. Marco teórico .....	43
3.1. Determinantes na vida fetal e nascimento .....	45

3.2. Determinantes na infância .....	46
3.3. Determinantes na adolescência e vida adulta .....	48
4. Objetivos .....	51
4.1. Objetivo geral .....	51
4.2. Objetivos específicos .....	51
5. Hipóteses .....	53
6. Metodologia .....	54
6.1. Delineamento .....	54
6.2. Metodologia da Coorte de 1982 .....	54
6.3. População alvo .....	56
6.4. Critérios de inclusão .....	56
6.5. Critérios de exclusão .....	56
6.6. Cálculo do tamanho de amostra .....	56
6.7. Instrumentos .....	58
6.8. Principais variáveis a serem utilizadas .....	62
6.9. Seleção e treinamento dos entrevistadores .....	64
6.10. Logística .....	65
6.11. Estudo piloto .....	66
6.12. Limitações do estudo .....	66
7. Coleta de dados .....	67
8. Controle de qualidade .....	67
9. Processamento de dados .....	67
10. Análise dos dados .....	68
11. Material .....	70
12. Aspectos éticos .....	70
13. Cronograma .....	71
14. Divulgação dos resultados .....	72
15. Orçamento/financiamento .....	72
16. Referências bibliográficas .....	73
Relatório de trabalho de campo .....	83
Modificações do projeto .....	110
Artigos .....	112
Artigo 1 - Amamentação e espessura do complexo médio-intimal	

carotídeo: revisão sistemática e meta-análise .....	112
Artigo 2 - Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo aos 30 anos, peso de nascimento, crescimento acelerado na infância e amamentação: um estudo de coorte no Sul do Brasil .....	126
Artigo 3 - Espessura do complexo médio-intimal carotídeo e fatores de risco cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas .....	136
Matéria para a imprensa .....	164
Conclusões gerais .....	166
Anexos .....	167
Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido do acompanhamento dos 30 anos do estudo da coorte de 1982 de Pelotas...	167
Anexo 2. Aprovação do comitê de ética do acompanhamento dos 30 anos do estudo da coorte de 1982 de Pelotas.....	169
Anexo 3. Manual técnico de coleta das imagens de ultrassom das carótidas.....	170
Anexo 4. Instruções aos autores para submissão do artigo 1 para revista Cadernos de Saúde Pública.....	177
Anexo 5. Instruções aos autores para submissão do artigo 3 para revista PLOS ONE.....	187



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA  
DOUTORADO EM EPIDEMIOLOGIA



***ESPESSURA DO COMPLEXO MÉDIO-INTIMAL CAROTÍDEO: INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES DE NASCIMENTO, DO CRESCIMENTO ACELERADO NA INFÂNCIA, DA AMAMENTAÇÃO E DOS FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS CARDIOVASCULARES AOS 30 ANOS NA COORTE DE 1982 EM PELOTAS, RS, BRASIL.***

**Projeto de Pesquisa**

**Doutorando Rogério da Silva Linhares  
Orientador: Dr. Bernardo Lessa Horta  
Banca: Dr. Juvenal Soares Dias da Costa  
Dr. Fernando César Wehrmeister**

**Novembro de 2013**

## RESUMO DO PROJETO

As doenças cardiovasculares (DCV) são um conjunto de doenças do coração e dos vasos sanguíneos e são a principal causa de óbito no mundo. Em 2008 se estimou que ocorreram 17,3 milhões de óbitos em consequência de DCV.

A aterosclerose está fortemente associada à DCV, ela é caracterizada pelo espessamento gradual da camada íntima, decorrente do depósito de material gorduroso, nas artérias de médio e grande porte. As manifestações clínicas das DCV muitas vezes surgem em fase na qual a aterosclerose já está muito avançada.

A espessura do complexo médio-intimal carotídeo (ECMIC) é uma medida estabelecida de aterosclerose pré-clínica e um preditor da ocorrência de doença coronária e acidente vascular cerebral (AVC). O estudo dos fatores associados ao aumento da espessura do complexo médio-intimal possibilita a identificação de fatores associados ao desenvolvimento precoce da aterosclerose.

Em 2012 foi realizado o acompanhamento aos 30 anos da Coorte de Nascidos Vivos de Pelotas de 1982, onde foram entrevistados 3701 indivíduos. A ECMIC foi medida bilateralmente por ultrassonografia bidimensional no segmento distal da carótida comum através da visualização do padrão de dupla linha na parede posterior das artérias carótidas comum em plano longitudinal, sendo formada por duas linhas paralelas, que consistem do limite anatômico da interface íntima-lúmen e média-adventícia. Realizaram este exame 3380 participantes, sendo considerados válidos os resultados de média da ECMIC da artéria carótida esquerda de 3012 indivíduos e da carótida direita de 2924 indivíduos.

A presente tese pretende avaliar as relações entre a ECMIC e as condições de nascimento, o crescimento acelerado na infância, a amamentação e os fatores de risco cardiovasculares metabólicos (dosagem sérica de glicose, triglicerídeos, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-total, a medida da circunferência abdominal, do índice de massa corporal e da pressão arterial) e comportamentais (dieta, sedentarismo, tabagismo e ingestão de bebidas alcoólicas).

## **PÁGINA COM OS TÍTULOS DOS TRÊS ARTIGOS DA TESE**

Artigo 1 – Revisão Sistemática e Meta-Análise sobre a associação entre Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo e Amamentação – Artigo de Revisão.

Artigo 2 – Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo aos 30 anos, condições de nascimento, crescimento acelerado na infância e amamentação na coorte de 1982 em Pelotas.

Artigo 3 – Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo e fatores de risco cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas.



## **Definição de termos e abreviaturas**

Acidente isquêmico transitório - AIT

Acidente Vascular Cerebral - AVC

Circunferência da Cintura – CC

Desvio-padrão - DP

Doença Arterial Coronariana - DAC

Doença crônica não transmissível - DCNT

Doença cardiovascular - DCV

Doença Isquêmica do Coração - DIC

Diabetes Mellitus Tipo 2 – DMT2

Escore de risco de Framingham – ERF

Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo - ECMIC

Evento Cardiovascular – ECV

Infarto Agudo do Miocárdio - IAM

Índice de Massa Corporal – IMC

Intervalo de Confiança - IC

Idade Gestacional - IG

Organização Mundial da Saúde - OMS

Proteína C Reativa - PCR

Pequeno para Idade Gestacional - PIG

Razão Cintura-Quadril - RCQ

Razão Cintura-Altura – RCA

Razão de *Odds* – RO

Recém-nascido - RN

Retardo de Crescimento Intrauterino – RCIU

Termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE

Universidade Federal de Pelotas - UFPel

Ultrassom - US

## **1. Introdução**

### **1.1. DOENÇA CARDIOVASCULAR**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) as doenças cardiovasculares (DCV) são um conjunto de doenças do coração e dos vasos sanguíneos<sup>1</sup>. As DCV incluem doença arterial coronariana, doença cerebrovascular, tal como o acidente vascular cerebral (AVC), hipertensão arterial sistêmica, doença arterial periférica, doença reumática do coração, doença cardíaca congênita e insuficiência cardíaca<sup>1</sup>.

As DCV são a principal causa de mortalidade no mundo<sup>1</sup>. Se estima que em 2008 ocorreram 17,3 milhões de óbitos em consequência de DCV, mais de 80% das mortes por DCV ocorreram em países de baixa e média renda<sup>1</sup>. Além disso, a distribuição das principais causas de morte mostra que em 2008, 31% dos óbitos ocorreram por DCV, 33% por outras DCNT, 27% por doenças transmissíveis, e condições maternas, perinatais e nutricionais, e 9% por traumatismos<sup>1</sup>.

No Brasil, em 2010, as doenças do aparelho circulatório foram responsáveis por 326.371 óbitos (30,87% do total de óbitos), sendo a principal causa de óbito<sup>2</sup>. Dentre as doenças do aparelho circulatório, grande parte da mortalidade foi decorrente das doenças cerebrovasculares (99.732 ou 30,6%) e isquêmicas do coração (99.955 ou 30,6%)<sup>2</sup>.

## **1.2. ATEROSCLEROSE**

A aterosclerose é caracterizada pelo espessamento gradual da camada íntima, decorrente do depósito de material gorduroso, nas artérias de médio e grande porte, estando fortemente associada à doença cardíaca isquêmica. Evidências sugerem que a aterosclerose inicia ainda na infância<sup>3</sup>. Estudo multicêntrico em 18 centros de 15 países, investigou 1.277 indivíduos, com idade entre 5 e 34 anos, que morreram de trauma e observou que no grupo etário dos 5 a 14 anos, cerca de 87,0% das artérias aorta e 30,0% das artérias coronárias já apresentavam estrias gordurosas. A média percentual da camada íntima com estrias gordurosas aumentou gradualmente dos cinco aos 34 anos de idade, e a prevalência de lesões com maiores espessuras na artéria aorta e na artéria coronária direita aumentou com a idade.

Entretanto, as manifestações clínicas das DCV muitas vezes surgem em fase de aterosclerose já muito avançada, como na meia-idade ou mais tarde, quando as lesões arteriais precipitam lesão orgânica.

## **1.3. MEDIDA DA ESPESSURA DO COMPLEXO MÉDIO-INTIMAL CAROTÍDEO**

O principal marcador de aterosclerose que tem sido utilizado em estudos epidemiológicos é a medida da espessura do complexo médio-intimal carotídeo (ECMIC)<sup>4-7</sup>. A medida da ECMIC tem poder preditivo de novos eventos cardiovasculares (infarto do miocárdio ou morte por DCV) e cerebrovasculares, mesmo quando fatores de risco tradicionais são levados em consideração<sup>4</sup>.

A espessura do complexo médio-intimal das grandes artérias periféricas, especialmente das carótidas, pode ser avaliada pelo ultrassom (US) bidimensional de alta-resolução de maneira relativamente simples, não invasiva e sem exposição à radiação<sup>7</sup>. Além de se correlacionar bem com a medida histológica da aorta e carótidas<sup>5</sup>, a medida da ECMIC com o uso de US está bem adaptada para uso em grandes estudos populacionais como marcador de aterosclerose generalizada<sup>6, 7</sup>. Além disso, esta técnica de US fornece um dos

melhores métodos para a detecção dos estágios iniciais da doença aterosclerótica, com alta capacidade para ilustrar a estrutura da parede arterial, com uma resolução melhor do que outras técnicas similares (ex. ressonância magnética ou técnicas radiográficas)<sup>7</sup>.

A medida da ECMIC por US, também, apresenta correlação moderada com a medida do US intravascular das coronárias, com coeficientes de correlação entre 0,49 e 0,55<sup>6</sup>. Em pacientes com coronária sem aterosclerose ou aterosclerose intermediária na angiografia coronária, a presença de ECMIC em média > 1 mm aumentou em 18 vezes o risco de ter um teste de US intravascular positivo (Razão de Odds (RO) = 17,99, IC 95%: 1,83; 177,14) e com um aumento em sete vezes do risco de estenose coronária significativa por US intravascular (RO = 7,4, IC 95%: 1,27; 44,00). Assim, a aterosclerose carotídea se correlaciona bem com a aterosclerose coronária, quando ambas as circulações são investigados pela mesma técnica (US), utilizando como parâmetro a espessura do complexo médio-intimal arterial. Isso apoia a ideia de que ECMIC é um marcador de aterosclerose generalizada<sup>6</sup>.

A ECMIC é considerada um preditor de infarto do miocárdio e AVC<sup>8</sup>, revisão sistemática e meta-análise incluindo oito estudos, com dados de 37.197 indivíduos que foram acompanhados por uma média de 5,5 anos, observou que a ECMIC era um forte preditor de AVC e infarto do miocárdio. Estimativas globais, ajustadas para idade e sexo, do risco relativo de infarto do miocárdio foram de 1,26 (IC 95%: 1,21; 1,30) para uma diferença de um desvio padrão (DP) da ECMI da artéria carótida comum e 1,15 (IC 95%: 1,12; 1,17) para uma diferença de 0,10 mm da ECMIC. Estimativas globais, ajustadas para idade e sexo, do risco relativo de AVC foram 1,32 (IC 95%: 1,27; 1,38) para uma diferença de um desvio padrão da ECMIC.

O escore de risco de Framingham (ERF) é utilizado para avaliar o risco de um indivíduo apresentar um evento cardiovascular em 10 anos<sup>9</sup>. Estudo longitudinal avaliou 1.969 pacientes dos quais 242 apresentavam ERF baixo ou intermediário. Eles foram monitorados por mais de cinco anos, sendo que vinte e quatro destes pacientes sofreram um evento cardiovascular dentro de cinco anos. Ambos ERF e ECMIC provaram ser preditores independentes ( $p < 0,04$ ,

ambos), com uma taxa de risco (HR) de 6,7 (IC 95% 1,43; 31,04) em pacientes cujo ERF foi intermediário. Na análise de Kaplan-Meier, o ECMIC melhorou significativamente o valor preditivo do ERF ( $p = 0,04$ ). Pacientes com ERF risco intermediário e que também apresentaram valores médios ou elevados da ECMIC ficaram na mesma categoria de alto risco que pacientes com ERF de alto risco. Assim, a combinação de ERF com medida da ECMIC pode ser utilizado na prática clínica para aumentar a previsibilidade de eventos cardiovasculares em pacientes que se enquadram na categoria de risco intermediário pelo ERF<sup>10</sup>.

Por outro lado, recentemente, uma meta-análise<sup>11</sup> avaliou se a ECMIC tem um valor adicional como preditor de risco de primeiro infarto do miocárdio ou AVC, acima do escore de risco de Framingham em 10 anos de acompanhamento. Foram incluídos 14 coortes de base populacional com dados de 45.828 indivíduos, foram observados 4.007 primeiros infartos do miocárdio ou AVCs. A estatística C (ou área sobre a curva ROC) de ambos os modelos foi semelhante 0,757 (IC 95%: 0,749; 0,764) e 0,759 (IC 95%: 0,752; 0,766), com esta medida podemos separar quem apresenta o desfecho de quem não apresenta, um bom discriminador supera 0,7 da área sobre a curva ROC. A melhora na reclassificação com a adição de ECMIC foi pequena 0,8% (IC 95%: 0,1%; 1,6%). Naqueles de risco intermediário, a melhora na reclassificação líquida foi de 3,6% (IC 95%: 2,7%; 4,6%) em todos os indivíduos e não houve diferenças entre homens e mulheres. Assim, conforme este estudo a ECMIC também mostrou efeito preditor sobre infarto do miocárdio e AVC, porém com a ressalva que acrescentou pouco além do escore de Framingham.

Em suma, a medida da ECMIC por US pode ser utilizada como um marcador de aterosclerose e preditor de eventos cardiovasculares. Além disso, apresenta resolução melhor do que qualquer outra técnica de imagem e está bem adaptada para uso em estudos populacionais.

## **1.4. REVISAO DE LITERATURA**

A revisão de literatura foi dividida em efeito dos fatores de risco perinatais e primeiros anos de vida e efeito dos fatores de risco contemporâneos, com o objetivo de facilitar a leitura e compreensão das relações entre o desfecho deste trabalho que é a ECMIC e os fatores de risco para as DCVs.

### **1.4.1. Fatores perinatais e dos primeiros anos de vida**

#### **1.4.1.1. Efeito de alguns fatores de risco perinatais**

Com o objetivo de quantificar os efeitos diretos e indiretos de exposições na vida fetal, infância e adulta sobre o risco de doença cardiovascular na idade de 49 a 51 anos, foram analisados dados da coorte de nascimento de Newcastle<sup>12</sup>. Foram avaliados 154 homens e 193 mulheres que completaram um questionário de saúde e estilo de vida e exame clínico. A posição socioeconômica e o peso ao nascer foram associados negativamente com a ECMIC. Estas variáveis do início da vida foram responsáveis diretas por 2,2% da variância total da ECMIC em homens e 2,0% nas mulheres.

A associação entre tabagismo dos pais durante a gravidez e as propriedades vasculares subsequentes em seus filhos foi avaliada na coorte de nascimentos WHISTLER-Cardio<sup>13</sup>. As crianças menores de cinco anos, cujas mães fumaram durante a gravidez tiveram a ECMIC 18,8  $\mu$ m mais espessa (IC 95%: 1,1; 36,5) e distensibilidade 15% menor (IC 95%: -0,3; -0,02) após o ajuste para a idade da criança, idade materna, sexo e amamentação. Essas associações não foram encontradas em filhos de mães que fumaram apenas após a gestação. As associações foram mais fortes se ambos os pais fumaram durante a gravidez, com a ECMIC 27,7  $\mu$ m mais espessa (IC 95%: 0,2; 55,3) e 21% menor distensibilidade (IC 95%: -0,4; -0,03). Sugerindo, portanto, que a exposição ao tabagismo dos pais durante a gravidez programa a estrutura e função arterial no início da vida.

Assim, a posição socioeconômica e o peso ao nascer apresentaram relação inversa com a ECMIC dos filhos, enquanto o tabagismo dos pais durante a gravidez apresentou associação positiva com a ECMIC dos filhos.

#### **1.4.1.2. Efeito do peso ao nascer**

Foi avaliada a ECMIC de 389 homens e mulheres idosos em Sheffield, Reino Unido, cujas medidas de nascimento estavam disponíveis. Indivíduos que haviam pesado 6,5 libras ou menos no nascimento tinham um risco maior que 30% de ter estenose carotídea do que aqueles que pesaram mais de 7,5 libras, mas esta tendência foi limítrofe (RO 1,8, IC 95%: 1,0; 3,3). Nos homens um aumento da ECMIC foi associado a ter sido mais pesados ao nascer (P = 0,049), após ajuste para idade gestacional e fatores de risco cardiovascular<sup>14</sup>.

O estudo holandês *Atherosclerosis Risk in Young Adults* (ARYA) investigou se o baixo peso ao nascer aumentava o risco de aterosclerose subclínica em uma amostra de base populacional de 750 homens e mulheres, com idades entre 27 a 30 anos. Em geral, o peso ao nascer não foi relacionado com a ECMIC. No entanto, no menor tercil de peso de nascimento foi observada uma associação inversa entre peso ao nascer e ECMIC (coeficiente de regressão linear de -12/kg, IC 95%: -6; -18). Ajuste para o sexo não alterou esses resultados, como também a exclusão de pretermos não alterou esta associação (coeficiente de regressão linear de -16 µm/kg, IC 95%: -9; -23). Estes resultados sugerem que o baixo peso ao nascer está associado com o aumento da ECMIC na idade adulta<sup>15</sup>.

Estudo em Helsinki, na Finlândia, comparou 92 adultos jovens (18 a 27 anos) que nasceram com muito baixo peso (< 1.500 g) com 68 nascidos a termo. A ECMIC nos participantes que tinham muito baixo peso ao nascer foi 0,437 mm (DP = 0,05), maior do que naqueles nascidos a termo 0,426 mm (DP = 0,04), mas a diferença não foi estatisticamente significativa 0,011 mm (IC 95%: -0,005; 0,026)<sup>16</sup>.



Por outro lado, estudo no sul da Califórnia avaliou a associação entre peso ao nascer e a ECMIC aos 11 anos. A média ECMIC foi de 0,57 mm (DP 0,04) e foi encontrada associação linear entre peso ao nascer e ECMIC, com um aumento na ECMIC de 0,014 milímetros no maior quintil (valor  $P = 0,01$ ) em comparação com o terceiro quintil de peso ao nascer. No entanto, nenhuma associação significativa com a ECMIC foi encontrada para as crianças no quintil mais baixo<sup>17</sup>.

Assim, embora alguns estudos não tenham mostrado associação entre a ECMIC e peso de nascimento, outros estudos mostram uma pequena tendência a aumento da ECMIC nas crianças nascidas nos dois extremos da curva de peso ao nascer.

#### **1.4.1.3. Efeitos do “catch-up”**

Segundo Tanner “catch-up” ou crescimento de recuperação é a aceleração do crescimento que acontece normalmente após a retirada do fator que estava causando atraso no crescimento<sup>18</sup>. É importante caracterizar o período da ocorrência do “catch-up”, pois o efeito em longo prazo sobre o risco cardiovascular pode se comportar de maneira diferente, por exemplo, um estudo multicêntrico com 5 coortes de nascimentos de baixa e média renda sugeriu que o “catch-up” precoce (até os 2 anos) pode ter efeitos benéficos, diminuindo o risco de doenças crônicas na idade adulta, enquanto que o crescimento tardio (após os 2 anos) aumentaria o risco de doenças crônicas na idade adulta<sup>19</sup>.

O estudo holandês (ARYA) avaliou o crescimento pós-natal nos primeiros 2 anos de vida definido como a diferença de decil de peso (por sexo) aos 6, 12, 18 ou 24 meses em comparação com o decil do peso (por sexo) ao nascer<sup>15</sup>. Diferença em decis ( $\Delta$ -decil) foram calculadas: entre o nascimento e 6 meses de idade (0-6 meses), nascimento e 1 ano de idade (0-12 meses), nascimento e 1,5 anos de idade (0-18 meses) e nascimento e 2 anos de idade

(0-24 meses). Em seguida, para definir o padrão de crescimento durante a infância cada  $\Delta$ -decil foi dividida em tercís da distribuição. Os menores, médio e alto tercís de  $\Delta$ -decil foram usados como medida para o mínimo, constante e exagerado crescimento no início da vida, respectivamente. O peso ao nascer foi associado positivamente com a ECMIC em indivíduos que apresentaram mínimo crescimento durante a infância (coeficiente de regressão linear de 0-24 meses de 26  $\mu\text{m}/\text{kg}$ , IC 95%: 9; 43). Em contrapartida, o peso ao nascer foi inversamente associado com o aumento da ECMIC nos participantes que mostraram o crescimento exagerado durante a infância acima dos 2 anos (coeficiente de regressão linear de -35  $\mu\text{m}/\text{kg}$ , IC 95%: -18; -52). Assim, o baixo peso ao nascer foi significativamente associado com o aumento da ECMIC em pessoas que apresentaram crescimento pós-natal exagerado. Estes resultados sugerem que o baixo peso ao nascer está associado com o aumento da ECMIC em adultos jovens que apresentaram crescimento pós-natal exagerado<sup>15</sup>.

Em uma coorte retrospectiva na Holanda (*PROgramming factors for GRowth And Metabolism (PROGRAM)*)<sup>20</sup>, foram avaliados 243 adultos com idade entre 18 e 24 anos, que nasceram com comprimento menor que -2 desvios-padrão (DP) ou mostravam baixa estatura (-2 DP) quando adultos. A ECMIC foi avaliada em quatro subgrupos: pequeno para idade gestacional (PIG) e baixa estatura (altura < -2 DP quando adulto), ou PIG com “catch-up” (altura > -1 DP quando adulto), apropriado para IG com baixa estatura (altura < -2 DP quando adulto), ou apropriado para IG com altura normal (controles que foram identificados da mesma população). A ECMIC foi maior no grupo PIG com “catch-up”  $\beta = 0,022$  mm (P-valor = 0,025) do que nos controles, após a correção para idade, sexo e diâmetro da artéria. Essa diferença diminuiu e deixou de ser significativa (P-valor = 0,062 e  $\beta = 0,018$  mm) após controle para tabagismo e pressão sistólica. Como os indivíduos que realizam “catch-up” pós-natal apresentam maior ECMIC do que os que não realizaram “catch-up” e o comprimento ao nascer não estava associado, o estudo sugere que o “catch-up” parece ter uma influência maior na ECMIC do que o comprimento ao nascer. Porém, este estudo não avaliou o período que ocorreu o “catch-up”<sup>20</sup>.

Estudo de coorte em Sydney, na Austrália, acompanhou 395 crianças com até 8 anos de idade que tinham dados completos para ganho precoce de peso e ECMIC<sup>21</sup>. Ganho de peso pós-natal precoce do nascimento até os 18 meses de idade foi associada significativamente com excesso de peso na infância e maior ECMIC (0,012 mm/kg, DP: 0,004, P = 0,002)<sup>21</sup>.

Estudo na Holanda com 333 crianças avaliou a associação entre taxa de ganho de peso e comprimento em escore-Z aos 3 meses e ECMIC aos 5 anos<sup>22</sup>. Para cada aumento de 1 desvio padrão na taxa de ganho de comprimento a ECMIC aumentava 5,1  $\mu\text{m}$  (IC 95%: 1,0; 9,2; P-valor = 0,01). Sugerindo que o crescimento precoce leva a um aumento na espessura das paredes arteriais. Em crianças que são relativamente magras ao nascer, o excesso de ganho de peso pós-natal precoce também levar a artérias mais rígidas. Isso apoia a visão de que o risco de doença cardiovascular está associado com o padrão de crescimento no início da vida<sup>22</sup>.

Assim, de acordo com os estudos apresentados o crescimento acelerado na infância está associado positivamente com a ECMIC na infância e vida adulta. Embora alguns estudos tenham sugerido que o “catch-up” precoce pode ter efeitos benéficos, a revisão em relação à ECMIC mostra que mesmo o crescimento precoce (até os 2 anos) está associado positivamente a ECMIC.

#### **1.4.1.4. Efeito da amamentação**

Evelein e colaboradores<sup>23</sup> avaliaram 306 crianças com 5 anos de idade e observaram que as crianças que foram exclusivamente amamentadas por 3 a 6 meses tinham um ECMIC 21,1  $\mu\text{m}$  maior do que aquelas exclusivamente alimentadas com fórmulas infantis (IC 95%: 5,0; 37,2  $\mu\text{m}$ , ajustado por variáveis de confusão). Por outro lado, ECMIC não foi significativamente diferente entre as crianças amamentadas exclusivamente por menos três meses ou naquelas amamentadas por mais de seis meses em relação às crianças alimentadas com fórmula. Assim, a associação com ECMIC foi apenas para uma categoria intermediária, não apresentando um padrão de dose-resposta<sup>23</sup>.

Outro estudo de coorte de base populacional, de adultos finlandeses avaliou a associação entre amamentação na infância e função e estrutura arterial na idade adulta, através do uso de US para medir fluxo endotelial da artéria braquial, a ECMIC e a complacência da artéria carótida<sup>24</sup>. Apesar da medida do fluxo endotelial da artéria braquial ter sido maior nos amamentados do que nos não amamentados, a amamentação não foi significativamente associada com a ECMIC e a complacência da artéria carótida em modelos multivariados (controlando para baixo peso, circunferência da cintura e diâmetro da artéria braquial)<sup>24</sup>.

Em uma coorte britânica (*The Boyd Orr Cohort*) se observou que indivíduos que foram amamentados na infância tinham menor ECMIC e aterosclerose aos 65 anos<sup>25</sup>. Nos modelos controlando para idade e sexo, a amamentação foi inversamente associada com a média da ECMIC na artéria carótida comum (diferença de -0,03 mm; IC 95%: -0,07; 0,01), o IC 95% incluiu o zero, portanto não é estatisticamente significativo, e com a presença de placa na carótida (RO 0,52, IC 95%: 0,29; 0,92). Controle para variáveis socioeconômicas na infância e na idade adulta, o tabagismo e uso de álcool praticamente não alteraram as estimativas de efeito. Controle para potenciais mediadores (pressão arterial, obesidade, colesterol, resistência à insulina, e proteína C-reativa) também não alteraram as medidas de efeito<sup>25</sup>.

Além de existirem poucos estudos sobre a associação entre amamentação e ECMIC, os resultados são controversos, um não encontrou associação e os outros dois encontraram resultados em sentidos opostos. Portanto, novos estudos sobre essa relação são necessários.

### **1.4.2. Efeito dos fatores de risco cardiovasculares contemporâneos**

Os fatores de risco contemporâneos foram divididos em comportamentais e metabólicos:

#### **Fatores de risco comportamentais:**

1. Tabaco;
2. Inatividade física;
3. Dieta não saudável;
4. Uso nocivo do álcool;

#### **Fatores de risco metabólicos:**

5. Aumento da pressão arterial;
6. Aumento da glicemia;
7. Aumento dos lipídeos sanguíneos;
8. Sobrepeso e obesidade.

## **Fatores de risco comportamentais:**

### **1.4.2.1. Tabaco**

A OMS estima que existem aproximadamente um bilhão de fumantes no mundo e aproximadamente seis milhões de pessoas morrem a cada ano devido ao fumo, representando 6% de todas as mortes em mulheres e 12% nos homens<sup>1</sup>. Existe para 2030 uma projeção de mais de oito milhões de mortes em consequência do tabagismo<sup>1</sup>. O tabagismo está bem estabelecido como um fator de risco para a aterosclerose carotídea<sup>26</sup>.

Estudo de coorte de base populacional prospectivo realizado em cinco centros na Finlândia<sup>27</sup>, avaliou 2.229 indivíduos com idade entre 24 a 39 anos que foram examinados na infância e adolescência com idades entre três e 18 anos em 1980 e reexaminados 21 anos mais tarde. Nos modelos multivariados ajustados para idade e sexo, na idade adulta a ECMIC foi significativamente associada com os níveis de tabagismo ( $\beta = 0,016$ ,  $P = 0,02$ ) na adolescência (12 a 18 anos); e quando adulto ( $\beta = 0,011$ ,  $P = 0,004$ ) para presença/ausência de tabagismo. Os fatores de risco medidos no acompanhamento de 12 para 18 anos de idade, incluindo níveis elevados de LDL-C, pressão arterial sistólica, índice de massa corporal e tabagismo, tiveram relação direta com a ECMIC entre 33 e 39 anos ( $P < 0,001$  para homens e mulheres), e permaneceu significativa após ajuste para as variáveis de risco contemporâneos. Os fatores de risco medidos aos 3 e 9 anos apresentaram associação com a ECMIC aos 24-30 anos nos homens ( $P = 0,02$ ), mas não em mulheres ( $P = 0,63$ ). Assim, o tabagismo avaliado em adolescentes de 12 a 18 anos de idade, mostrou-se um forte preditor da ECMIC em adulto independentemente de fatores de risco contemporâneos<sup>27</sup>.

A associação entre a ECMIC e tabagismo foi estudada em 12.953 indivíduos com idades entre 45 e 65 anos, examinados no *Atherosclerosis Risk in Communities Study*<sup>26</sup>. Entre ex-fumantes e fumantes, o aumento de exposição ao tabagismo foi associada positivamente com a ECMIC<sup>26</sup>.

Assim, de acordo com os estudos apresentados o uso do tabaco parece se associar positivamente com o aumento da ECMIC.

#### **1.4.2.2. Inatividade física**

A recomendação atual da OMS para a prática de atividade física para indivíduos na faixa etária dos 18 aos 64 anos é: (1) de 150 minutos de atividade aeróbica moderada, ou 75 minutos de atividade aeróbica intensa; (2) a atividade aeróbica deve ser realizada em períodos de pelo menos dez minutos de duração; (3) atividades de fortalecimento muscular, envolvendo os grandes grupos musculares, devem ser feitas em dois ou mais dias da semana<sup>28</sup>.

Para avaliar o efeito da atividade física sobre a ECMIC e perfil de risco cardiovascular<sup>29</sup>, 67 jovens obesos (14,7 anos  $\pm$ 2,2 anos) foram alocados aleatoriamente para participar ou não de um programa de seis meses de exercício (1 hora, 3 vezes/semana). Melhorias significativas foram observadas no grupo de exercício sobre a ECMIC, redução de 8,4  $\pm$ 15,8% contra um aumento de 0,5  $\pm$ 12,8% no grupo controle ( $p=0,01$ ). Assim, o exercício físico regular durante 6 meses diminuiu a ECMIC associado com uma melhora do perfil de risco cardiovascular em jovens obesos<sup>29</sup>.

Além disso, o estudo *The Los Angeles Atherosclerosis Study* demonstrou proteção da atividade física no lazer em 500 indivíduos de meia-idade livres de doença cardiovascular sobre a ECMIC<sup>30</sup>. Embora os efeitos ótimos foram observados no grupo de exercício vigoroso, os autores mostraram que houve uma relação gradual entre atividade física e o aumento da ECMIC, independente de outros fatores de risco cardiovasculares (de 14,3  $\pm$  1,7 microns / ano em indivíduos sedentários, para 10,2  $\pm$  1,0 microns / ano em indivíduos moderadamente ativos, para 5,5  $\pm$ 1,5 microns / ano em indivíduos vigorosamente ativos,  $p < 0,0001$ )<sup>30</sup>.

Portanto, as evidências sugerem que a prática de atividade física parece se associar inversamente com o aumento da ECMIC.

#### **1.4.2.3. Dieta não saudável**

Há um considerável conjunto de evidências sobre o papel da alimentação na aterosclerose e sobre a saúde geral e cardiovascular<sup>1</sup>. Ingesta alimentar de gordura saturada, colesterol, gordura-trans e sal, além de baixa ingestão de frutas, legumes e peixe estão ligados a maior risco cardiovascular<sup>1</sup>.

Para investigar a associação entre dieta e DCV, foi realizada uma revisão sistemática<sup>31</sup> na base de dados MEDLINE. Fortes evidências apoiaram associações válidas (4 critérios de Bradford Hill satisfeitos: força, consistência, temporalidade e coerência) para fatores de proteção, incluindo a ingestão de vegetais, nozes e Dieta do Mediterrâneo e padrões alimentares de alta qualidade (padrão alimentar que enfatiza maior ingestão de verduras, legumes, frutas, nozes, cereais integrais, queijo ou iogurte, peixe e gordura monoinsaturada em relação a gordura saturada) e associações de fatores prejudiciais, incluindo a ingestão de gordura *trans* e alimentos com alto índice glicêmico. Entre os estudos de maior qualidade metodológica, houve também fortes evidências que a ingestão de gordura monoinsaturada (em relação à gordura saturada) e padrões dietéticos saudáveis e ocidentais são protetores para DCV. Evidência moderada (três critérios) de associações protetoras para ingestão de peixes, omega-3, folato, cereais integrais, vitaminas E e C, beta caroteno, álcool, frutas e fibras para DCV. Entre as exposições alimentares com forte evidência a partir de estudos de coorte, apenas a dieta mediterrânea está associada com melhora da doença arterial coronariana em estudos randomizados<sup>31</sup>.

Para avaliar o efeito de dois tipos de Dieta do Mediterrâneo na progressão da ECMIC, foi realizado um ensaio clínico randomizado<sup>32</sup>, 187 pessoas assintomáticas, mas com alto risco cardiovascular (apresentar diabetes ou pelo menos três fatores de risco cardiovasculares tradicionais) foram aleatoriamente alocadas para um dos seguintes grupos: Dieta do



Mediterrâneo com suplementação de azeite de oliva extra virgem, n = 66; Dieta do Mediterrâneo com suplementação de nozes, n = 59, e grupo controle (não receberam dieta específica), n = 62. Os participantes receberam aconselhamento nutricional em grupo e sessões educacionais individuais. Alimentos suplementares livres foram fornecidos aos grupos de Dieta do Mediterrâneo. Mudanças na média da ECMI das artérias carótidas comuns foram medidas por US após um ano. Em geral, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos na progressão da ECMIC depois de um ano. No entanto, interação ( $p = 0,03$ ) entre a linha de base da ECMIC e intervenção foi aparente. Entre os participantes que na base tinham ECMIC  $\geq 0,9$  milímetros, as mudanças da ECMIC em 1 ano versus controle apresentaram diferenças significativas, de  $-0,079$  milímetros (IC 95%,  $-0,145$  a  $-0,012$ ) para a Dieta do Mediterrâneo com suplementação de azeite de oliva virgem e  $-0,072$  milímetros ( $-0,140$  a  $-0,004$ ) para a Dieta do Mediterrâneo com nozes. Não ocorreram alterações na ECMIC em qualquer grupo de intervenção entre os participantes quando os valores iniciais da ECMIC eram  $< 0,9$  mm. As Dietas do Mediterrâneo foram eficazes em indivíduos com ECMIC inicialmente elevada, sugerindo que a aterosclerose subclínica pode responder a intervenção dietética dentro de um prazo relativamente curto<sup>32</sup>.

De acordo com as evidências, a alimentação saudável (como a dieta do mediterrâneo) parece se associar inversamente com o aumento da ECMIC.

#### **1.4.2.4. Uso nocivo do álcool**

Cerca de 2,3 milhões de pessoas morre a cada ano pelo consumo nocivo de álcool, correspondendo a 3,8% de todas as mortes, sendo que 14% dessas mortes são devido as DCVs e diabetes mellitus<sup>1</sup>.

Para avaliar a associação entre consumo de álcool, a ECMIC e fatores de risco cardiovasculares foram estudados<sup>33</sup> 2.074 indivíduos, com idades entre 24-39 anos. Foi observada associação diretamente proporcional entre a ingestão de álcool e a ECMIC, independente da idade, sexo e fatores de risco cardiovascular, por exemplo, pressão sanguínea, LDL-colesterol, HDL-

colesterol, Índice de Massa Corporal (IMC), tabagismo, PCR e insulina ( $P = 0,008$  na análise multivariada). O consumo de vinho ou bebidas com alto teor alcoólico (valores de  $P$  respectivamente  $0,03$  e  $0,01$  para o aumento da ECMIC para cada frequência de consumo de bebida) também esteve diretamente correlacionado com a ECMIC nos modelos ajustados para idade, sexo e fatores de risco. Assim, encontramos uma relação direta entre o consumo de álcool e a ECMIC em adultos jovens. Esta associação foi independente de fatores de risco cardiovasculares, sugerindo que em adultos jovens saudáveis o consumo de álcool pode ter efeitos pró-aterogênicos<sup>33</sup>.

Outro estudo investigou a relação entre a ingestão de álcool e a ECMIC em uma população saudável na Pomerânia<sup>34</sup>. Nos homens, uma correlação positiva entre o consumo diário de álcool e a ECMIC foi observada ( $P < 0,0001$ ), enquanto que nas mulheres a correlação não foi significativa. O tipo de bebida consumida não modificou a associação. A ECMIC foi significativamente maior em homens com ingestão de álcool superior a  $20$  g/dia do que naqueles com ingestão de álcool  $< 20$  g/dia ( $P < 0,001$ ). Após ajuste para idade, fatores de risco convencionais, nutrição e atividade física, houve aumento da ECMIC de  $0,0253$  milímetros para cada aumento de  $21,4$  g / dia na ingestão de álcool nos homens ( $P < 0,05$ )<sup>34</sup>.

De acordo com as evidências revisadas, o consumo de bebida alcoólica parece se associar positivamente com o aumento da ECMIC.

## **Fatores de risco metabólicos:**

### **1.4.2.5. Aumento da pressão arterial**

A hipertensão arterial causa 7,5 milhões de mortes anualmente, ou seja, 12,8% do total de mortes do mundo<sup>1</sup>. O aumento da pressão arterial está positivamente associado com o risco de AVC e doença arterial coronariana. Segundo o *The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure* (JNC 7) a detecção precoce de hipertensão arterial e o seu tratamento reduzem o risco cardiovascular em pessoas com hipertensão<sup>35</sup>. Ensaio clínico demonstraram benefícios com a terapia anti-hipertensiva, com redução média de 35-40% na incidência de AVC, redução média de 20-25% no risco de infarto do miocárdio e redução acima de 50% na incidência de insuficiência cardíaca<sup>35</sup>. Estima-se que um óbito é prevenido para cada 11 pacientes tratados com hipertensão estágio 1, quando se consegue uma redução sustentada de 12 mmHg na pressão arterial sistólica por um período superior a 10 anos<sup>35</sup>.

Em 2008, estimou-se que a prevalência global de hipertensão arterial em adultos acima de 25 anos estava ao redor de 40%<sup>1</sup>. No Brasil dados do VIGITEL 2010, que avaliou moradores das capitais brasileiras, que possuem telefone, mostraram que a prevalência de hipertensão arterial autorreferida aumentava com a idade, atingindo mais de 50% das pessoas com mais de 55 anos<sup>36</sup>. A proporção de brasileiros com hipertensão arterial auto referida aumentou nos últimos cinco anos, passando de 21,6%, em 2006, para 23,3%, em 2010<sup>36</sup>.

A hipertensão arterial desempenha um papel patogênico direto na progressão da hipertrofia da parede da artéria carótida através de fatores hemodinâmicos (como a distensão arterial por pressão local, carga pulsátil, e tensão de cisalhamento) pode induzir alterações intrínsecas na parede arterial, resultando em aumento da ECMIC acelerando a progressão desta doença<sup>37</sup>. O HARVEST é um estudo multicêntrico de acompanhamento, cujo objetivo foi avaliar a prevalência e a progressão de lesão de órgãos-alvo em jovens

hipertensos limítrofes (PA sistólica entre 140-159 mmHg e/ou diastólica entre 90-94 mmHg). Para definir o papel desempenhado pelos vários fatores de risco no aumento da ECMIC foram avaliados 97 hipertensos limítrofes e 27 controles normotensos. Após o ajuste para idade, sexo, frequência cardíaca, IMC, tabagismo, colesterol, triglicérides e atividade física, a média da ECMIC era maior nos hipertensos limítrofes em comparação com os controles. A média da ECMIC nos hipertensos limítrofes foi de 0,44 mm ( $\pm 0,11$ ), enquanto a média da ECMIC nos controles normotensos foi de 0,41 mm ( $\pm 0,12$ ). Os níveis de pressão arterial foram o principal determinante da média da ECMIC<sup>37</sup>.

Toikka e colaboradores<sup>38</sup> avaliaram homens saudáveis (idade  $37 \pm 4$  anos) que foram classificados em dois grupos: hipertensão limítrofe (sistólica de 130 a 140 mmHg ou diastólica 85 a 89 mmHg, N=16) ou normal (<130/85 mmHg, N=22). Os grupos foram pareados por idade, tamanho corporal e níveis séricos de colesterol. Em comparação com os controles normotensos, homens com hipertensão limítrofe tiveram maior ECMIC ( $0,58 \pm 0,06$  contra  $0,75 \pm 0,07$  mm,  $P < 0,001$ ). Na análise multivariada (controlando para idade, IMC, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica, pressão arterial sistólica de 24 horas, pressão arterial diastólica de 24 horas, colesterol total, colesterol-LDL, colesterol-HDL, triglicérides e insulina sérica) a pressão arterial sistólica de 24 horas foi a única variável associada com ECMIC ( $P < 0,001$ )<sup>38</sup>.

Outro estudo<sup>39</sup> comparou 198 pacientes com hipertensão essencial, que eram assintomáticos e que nunca realizaram tratamento e 67 participantes normotensos. A média da ECMIC nos hipertensos foi de 0,91 mm ( $\pm 0,19$ ), e nos normotensos de 0,81 mm ( $\pm 0,19$ ),  $P = 0,01$ . Além disso, de acordo com o número de fatores de risco, os pacientes com hipertensão arterial foram divididos em três grupos: grupo I-presença de um fator de risco cardiovascular, grupo II-presença de dois fatores de risco cardiovasculares, grupo III-presença de três ou mais fatores de risco cardiovasculares. A presença de outros fatores de risco cardiovascular esteve positivamente associada com as médias da ECMIC (grupo I:  $0,78 \pm 0,23$ ; grupo II:  $0,81 \pm 0,14$ ; grupo III:  $0,90 \pm 0,14$ ) e esta diferença foi significativa ( $P < 0,001$ ), demonstrando que além da pressão arterial, a ECMIC também está associada com o número de fatores de risco<sup>39</sup>.

O estudo *The Muscatine Study* avaliou a associação de fatores de risco cardiovasculares na infância (8 a 18 anos), juventude (20 a 34 anos) e idade adulta (33 a 42 anos) com a ECMIC na idade adulta<sup>40</sup>. Comparando a RO do primeiro quartil da ECMIC contra os três quartis inferiores. A pressão arterial na infância e juventude não foram associadas com a ECMIC para ambos sexos, porém a pressão arterial diastólica nas mulheres entre 33 e 42 anos (RO 1,46, IC 95%: 1,14; 1,87) foi associada com a ECMIC. Para os homens entre 33 e 42 anos a pressão arterial diastólica (RO 1,58, IC 95%: 1,05; 2,37) foi preditivo do primeiro quartil da ECMIC.

O conjunto de evidências mostra que o aumento da pressão arterial está associado positivamente ao aumento da ECMIC.

#### **1.4.2.6. Aumento da glicemia**

Diabetes é definida, segundo a *American Diabetes Association* (ADA), pela glicemia em jejum  $\geq 126$  mg/dL<sup>41</sup>. O pré-diabetes é uma condição clínica em que o paciente apresenta aumento anormal da glicemia, sendo definido pela glicemia, com valor entre 100-125 mg/dL<sup>41</sup>.

Indivíduos portadores de pré-diabetes apresentam 34% mais risco de morrer devido a um evento cardiovascular (infarto do miocárdio ou AVC) do que pessoas saudáveis<sup>41</sup>. Revisão sistemática<sup>42</sup> identificou 23 estudos com 24.111 participantes, sendo 4.019 com *Diabetes Mellitus* (DM) e 1.110 com pré-diabetes. Os pacientes diabéticos tiveram ECMIC em média 0,13 mm (IC 95%: 0,12; 0,14) maior do que os do grupo controle e os pacientes com pré-diabetes apresentavam ECMIC 0,04 mm (IC 95%: 0,014; 0,071) maior. A diferença observada na ECMIC pode ser interpretada como se os pacientes com diabetes fossem mais do que 10 anos mais velho do que os grupos de controle e que os riscos relativos de infarto do miocárdio e AVC aumentaram em cerca de 40%<sup>42</sup>.

Em 2009, Brohall e colaboradores<sup>43</sup> realizaram outra revisão sistemática da literatura, em busca de estudos que compararam especificamente

indivíduos com e sem pré-diabetes. Foram identificados 12 estudos que mostraram uma diferença de 0,030 mm (IC 95%: 0,012; 0,048) na ECMIC da carótida entre o grupo com pré-diabetes e o grupo sem pré-diabetes<sup>43</sup>.

#### **1.4.2.7. Aumento dos lipídeos sanguíneos**

O *The Muscatine Study* também avaliou a associação dos lipídeos sanguíneos na infância (8 a 18 anos), juventude (20 a 34 anos) e idade adulta (33 a 42 anos) com a média da ECMIC na idade adulta, confrontando a RO do primeiro quartil da ECMIC contra os três quartis inferiores<sup>40</sup>. Na análise multivariada, os preditores contemporâneos que foram associados com a ECMIC foram idade e colesterol-LDL em ambos os sexos (Homens: RO 2,00, IC 95%: 1,50; 2,67; Mulheres: RO 1,74, IC 95%: 1,36; 2,23). Na infância, o colesterol total foi um preditor para ambos os sexos (Homens: RO = 1,53, IC 95%: 1,19; 1,96; Mulheres: RO 1,43, IC 95%: 1,12; 1,83). Para os homens: colesterol-LDL (RO 1,80, IC 95%: 1,30; 2,48) e colesterol-HDL (RO 0,66, IC 95%: 0,46; 0,94) foram preditivos da ECMIC em um modelo de carga de fator de risco, enquanto que nas mulheres: colesterol-LDL (RO 1,63, IC 95%: 1,24; 2,14) e triglicérides (RO 1,49, IC 95%: 1,04; 2,13) foram preditivos<sup>40</sup>.

Coorte prospectiva na Finlândia, avaliou 2.229 indivíduos com idade entre 24 a 39 anos que foram examinados na infância e adolescência com idades entre três e 18 anos em 1980 e reexaminados 21 anos mais tarde<sup>27</sup>. Nos modelos multivariados ajustados para idade e sexo, na idade adulta a ECMIC foi associada com os níveis, na infância (12 a 18 anos), de colesterol-LDL ( $\beta = 0,023$ ,  $P = 0,001$ ). Os fatores de risco medidos no acompanhamento de 12 para 18 anos de idade, incluindo níveis elevados de colesterol-LDL tiveram relação direta com a ECMIC medida em jovens adultos com idades entre 33 a 39 anos ( $P < 0,001$  para homens e mulheres), e permaneceu significativa após ajuste para as variáveis de risco contemporâneos<sup>27</sup>.

Para avaliar a relação entre colesterol total e DCV, foi realizada uma meta-análise que reuniu estudos prospectivos de mortalidade por causa cardiovascular que havia registro da pressão arterial e do colesterol total no

início do estudo<sup>44</sup>. Foram identificados 61 estudos prospectivos, principalmente da Europa Ocidental e América do Norte, que avaliaram cerca de 900.000 adultos sem doença anterior. Colesterol total menor que 1 mmol/L estava associado com menor mortalidade por DIC em ambos os sexos, sendo que a magnitude da proteção diminuiu com aumento da faixa etária, variando o risco combinado de 0,44 (IC 95%: 0,42; 0,48) nos indivíduos com idade entre 40-49 anos a 0,83 (0,81; 0,85) nos indivíduos com idade de 70 a 89 anos. A relação colesterol total / colesterol HDL foi o mais forte preditor de mortalidade por DIC<sup>44</sup>.

Estudos epidemiológicos também tem relatado proteção do colesterol-HDL para DCV em homens mais velhos e mulheres mais jovens. Estudo longitudinal avaliou a progressão em 5 anos da ECMIC de acordo com os níveis de colesterol-HDL em um grupo de 500 homens e mulheres com idade entre 40-60 anos<sup>45</sup>. A ECMIC no início do estudo foi inversamente associada com os níveis séricos de colesterol-HDL e as associações eram comparáveis em mulheres e homens. No entanto, a progressão da ECMIC foi inversamente associada com os níveis séricos de colesterol-HDL em homens, mas diretamente associados em mulheres ( $p = 0,0007$  para a interação). Sugerindo que o colesterol-HDL protege contra a progressão da aterosclerose carotídea em homens de meia-idade e os efeitos podem diminuir em mulheres em torno da menopausa<sup>45</sup>.

Revisão sistemática conduzida por Labreuche e colaboradores, identificou 31 estudos que avaliaram a relação entre os níveis de triglicerídeos e risco de AVC e 38 artigos sobre triglicerídeos e ECMIC<sup>46</sup>. Dos 38 estudos sobre ECMIC ( $n = 43.161$ ), 11 relataram correlação significativa entre os níveis da ECMIC e triglicerídeos, dos quais três eram sem ajustes, e um relatou uma relação inversa. Todos os três estudos com análise longitudinal relataram uma associação positiva entre os níveis basais de triglicerídeos e progressão da ECMIC<sup>46</sup>.

Assim, de acordo com os estudos apresentados o aumento do colesterol total, do colesterol-LDL e dos triglicerídeos se associam positivamente com o

aumento da ECMIC, por outro lado, o aumento do colesterol-HDL se associa inversamente com a ECMIC.

#### **1.4.2.8. Sobrepeso e Obesidade**

De acordo com a OMS, obesidade é definida como acúmulo anormal ou excessivo de gordura que acarreta riscos à saúde<sup>1</sup>. A obesidade, geralmente, é estimada a partir do IMC que é calculado através do peso (em quilogramas) dividido pela altura (em metros) elevada ao quadrado<sup>1</sup>. Sobrepeso é definido como IMC maior ou igual a 25 kg/m<sup>2</sup>, enquanto obesidade é o IMC maior ou igual a 30 kg/m<sup>2</sup><sup>1</sup>.

Revisão sistemática<sup>47</sup> sobre estudos realizados em crianças e adolescentes observou que jovens obesos apresentaram maiores valores de ECMIC (entre 0,38 mm e 0,74 mm) em relação a aqueles do grupo controle (entre 0,35 mm e 0,57 mm) em 10 estudos ( $p < 0,05$ ).

Além disso, o estudo *The Muscatine Study*<sup>40</sup> avaliou a associação do IMC na infância (8 a 18 anos), juventude (20 a 34 anos) e idade adulta (33 a 42 anos) com a média da ECMIC na idade adulta, comparando a RO do primeiro quartil da ECMIC contra os três quartis inferiores. Na infância, o IMC esteve associado apenas nas mulheres (RO = 1,47, IC 95%: 1,14; 1,89). Nas mulheres o IMC foi preditivo da ECMIC em um modelo de carga de fator de risco (RO 1,41, IC 95%: 1,06; 1,89).

Outro estudo com 310 participantes do estudo *Progetto ATENA*<sup>48</sup>, constituída por mulheres de meia-idade ( $n = 5.062$ , idade, 30-69 anos). Os indivíduos foram divididos em três grupos com base no IMC (adequado, sobrepeso e obesidade). Observou um aumento gradual da ECMIC da carótida comum em mulheres com peso adequado ( $0,94 \pm 0,01$  mm) comparadas com mulheres com excesso de peso ( $0,98 \pm 0,01$  mm) e obesas ( $1,02 \pm 0,02$  mm),  $P < 0,005$  para tendência linear. Em análise multivariada, o IMC esteve diretamente associado com a ECMIC, independentemente de outros fatores de



risco cardiovascular tradicionais (idade, pressão arterial, anormalidades lipídicas)<sup>48</sup>.

Coorte prospectiva em cinco centros na Finlândia<sup>27</sup>, avaliou 2.229 indivíduos com idade entre 24 a 39 anos que foram examinados na infância e adolescência com idades entre três e 18 anos em 1980 e reexaminados 21 anos mais tarde. Nos modelos multivariados ajustados para idade e sexo, na idade adulta a ECMIC foi significativamente associada com os níveis, na infância (12 a 18 anos), de IMC ( $\beta = 0,009$ ,  $P = 0,007$ ; e quando adulto com IMC ( $\beta = 0,011$ ,  $P < 0,001$ ). Os fatores de risco medidos no acompanhamento de 12 para 18 anos de idade, incluindo níveis elevados de LDL-C, pressão arterial sistólica, índice de massa corporal e tabagismo, tiveram relação direta com a ECMIC medida em jovens adultos de idades 33 a 39 anos ( $P < 0,001$  para homens e mulheres), esta associação permaneceu significativa após ajuste para as variáveis de risco contemporâneos<sup>27</sup>.

As evidências sugerem que o IMC está diretamente relacionado com a ECMIC.

#### **1.4.2.9. Obesidade abdominal**

O excesso de obesidade visceral está mais fortemente relacionado a fatores de risco metabólicos do que a gordura depositada em qualquer outro compartimento de gordura<sup>49</sup>. Nesse sentido, a circunferência da cintura e a razão cintura-quadril (RCQ) são bons métodos para medir a quantidade de tecido adiposo na região abdominal<sup>50, 51</sup>.

No estudo estudo *Progetto ATENA* com mulheres de meia idade (30 a 69 anos) observou que as mulheres no maior tercil de RCQ ( $> 0,85$ ) apresentaram maior ECMIC do que as mulheres nos dois primeiros tercis ( $P < 0,01$  para ECMIC). Nas análises multivariadas a RCQ ( $\beta = 0,41$ , DP = 0,15,  $p = 0,006$ ) foi preditor significativo da ECMIC, independentemente de outros fatores de risco cardiovascular tradicionais (idade, pressão arterial e dislipidemias). Os resultados indicam uma associação independente entre

obesidade abdominal refletida pelo aumento da RCQ e a ECMIC em mulheres de meia-idade<sup>48</sup>.

Estudo chinês mostrou que a ECMIC foi significativamente maior em mulheres com CC  $\geq 85$  centímetros do que naqueles com seu CC  $< 85$  cm ( $P < 0,01$ )<sup>52</sup>. Correlação de Spearman mostrou que a ECMIC foi significativamente correlacionada com a CC independente do estado menopausal. A análise de regressão múltipla *stepwise* revelou que o CC foi um fator de risco independente para a ECMIC. No modelo de regressão logística, a RO da CC  $< 80$  cm,  $\geq 80$  cm e  $< 85$  cm e  $\geq 85$  cm para avaliar o risco de aumento da ECMIC foi 1,6 , 1,5 e 1,9, respectivamente<sup>52</sup>.

Estudo em Dublin na Irlanda avaliou 100 indivíduos (71 mulheres e 29 homens) que nunca fumaram nem apresentaram eventos cardiovasculares, com pressão arterial, colesterol-LDL e glicemia dentro da normalidade<sup>53</sup>. A média (DP) da ECMIC: dos indivíduos com peso adequado pelo IMC foi 0,60 mm (0,02) contra 0,70 mm (0,02) dos indivíduos com excesso de peso ( $p < 0,001$ ); dos indivíduos com CC adequada 0,60 mm (0,02) contra 0,80 mm (0,03) dos com obesidade abdominal ( $p < 0,001$ ); e, RCQ adequada 0,64 mm (0,02) contra 0,69 mm (0,02) dos com obesidade abdominal<sup>53</sup>. Estes dados suportam que fatores de risco antropométricos são preditores independentes da ECMIC<sup>53</sup>.

Assim, de acordo com os estudos apresentados a obesidade abdominal está diretamente relacionados com a ECMIC.

## **2. Justificativa**

Conforme previamente mencionado as doenças cardiovasculares são a principal causa de morte no mundo. A aterosclerose está na gênese do principal processo patológico das doenças cardiovasculares e a medida da ECMIC, serve como marcador de aterosclerose, permitindo a avaliação e o monitoramento da aterosclerose de maneira simples e não invasiva.

A coorte prospectiva é o delineamento observacional mais adequado para avaliar associações ao longo da vida, pois a exposição é avaliada antes do aparecimento do desfecho e, assegurando a qualidade dos dados coletados, pois estes foram coletados próximo do momento da sua ocorrência, sem depender de longo recordatório. Nesse sentido, a Coorte de Nascidos Vivos de 1982 da cidade de Pelotas é um estudo apropriado para avaliar o período perinatal, a infância, a adolescência e a idade adulta e suas relações com os fatores de risco cardiovasculares e a ECMIC na vida adulta.

Ao avaliar a ECMIC aos 30 anos e as suas relações com fatores de risco da vida fetal, nascimento e infância nos participantes da Coorte de Nascidos Vivos de 1982 da cidade de Pelotas, pretende-se contribuir com a literatura de ciclo vital relacionando os fatores de risco cardiovasculares precoces que estão associados ao processo de aterosclerose ao longo da vida com as DCV.

### **3. Marco teórico**

Conforme relatado na introdução o principal processo patológico subjacente que leva a DCV é a aterosclerose. A aterosclerose é uma doença multifatorial e as manifestações das DCV muitas vezes surgem em fase de aterosclerose já muito avançada. A aterosclerose apresenta uma fase subclínica longa caracterizada por disfunção endotelial e espessamento gradual da camada íntima, decorrente do depósito de material gorduroso e de colesterol no interior do lúmen de artérias de médio e grandes porte. Estes depósitos (placas) tornam a luz do vaso estreita e irregular, tornando mais difícil o fluxo sanguíneo. Os vasos sanguíneos tornam-se menos flexíveis e eventualmente a placa pode se romper (fase trombótica), provocando formação de coágulo de sangue. Se isso ocorre na artéria coronariana causa um infarto do miocárdio, ou se desenvolver no cérebro e pode causar um AVC.

O presente trabalho tem como desfecho a ECMIC, importante marcador de aterosclerose vascular. Os fatores de risco cardiovasculares induzem alterações vasculares estruturais que ao longo do tempo podem levar à aterosclerose. Evidências sugerem que o processo de aterosclerose se inicia já na infância<sup>27, 54</sup>. O marco teórico do processo de aterosclerose será discutido conforme a figura a seguir com base nas diferentes fases da vida.

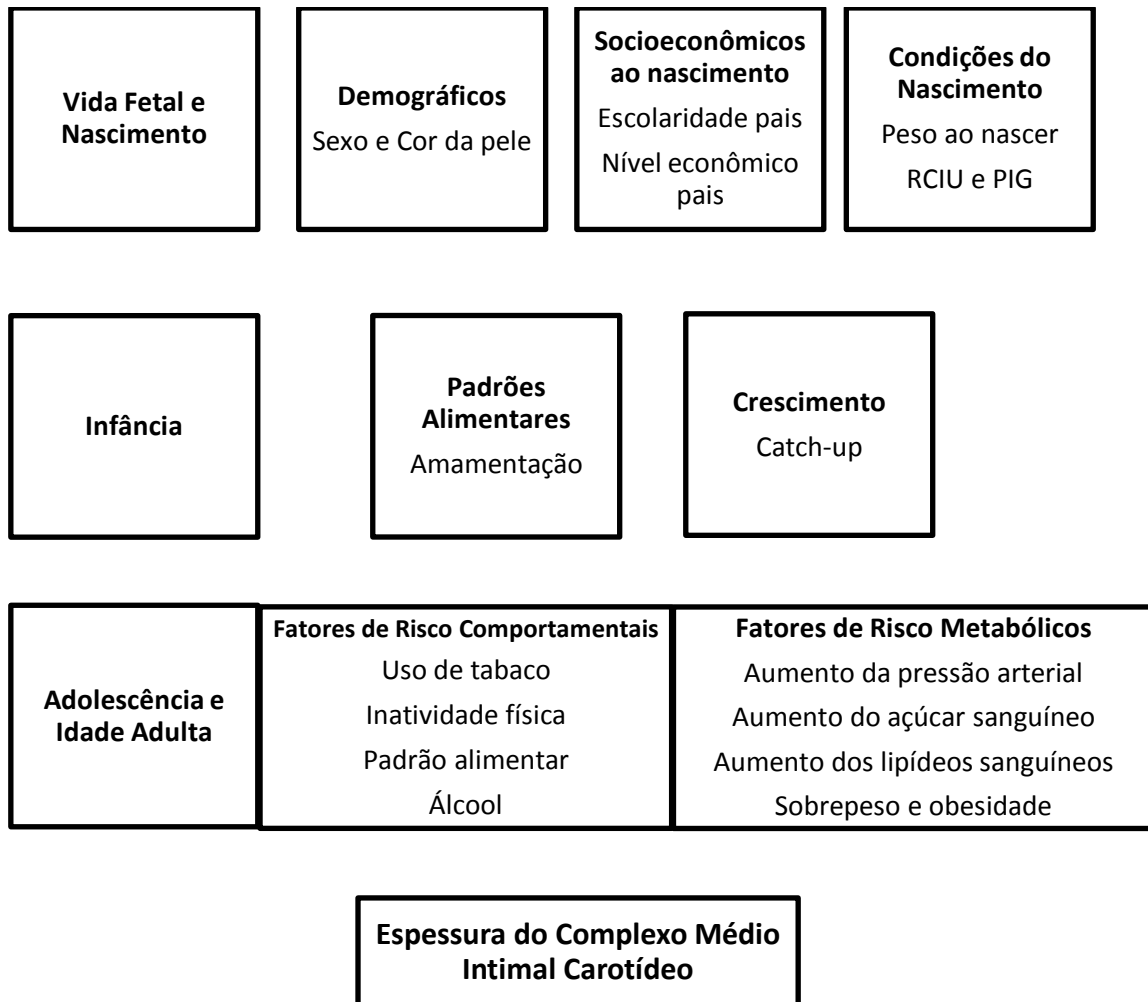


Figura 1. Modelo teórico do trabalho

### 3.1 Determinantes na vida fetal e nascimento

Em relação aos determinantes do início da vida e as doenças crônicas na idade adulta foram propostas algumas hipóteses, sendo chamada de teoria sobre a origem precoce das doenças ou hipótese de Barker<sup>55</sup>.

Barker observou a associação entre baixo peso ao nascer e risco de DCV na vida adulta<sup>56</sup>. Na Noruega, Finlândia, Grã-Bretanha e Estados Unidos a mortalidade por doença cardiovascular era inversamente proporcional à altura do adulto, e as diferenças geográficas na mortalidade cardiovascular estavam relacionadas com diferenças na mortalidade infantil no passado. Então, Barker sugeriu que as condições de vida adversas durante a infância, tais como condições precárias de habitação e dieta aumentariam o risco de doença isquêmica do coração. Nesse sentido, em Hertfordshire havia o registro do peso ao nascer de todos os bebês nascidos de 1911 em diante e alimentação na infância<sup>56</sup>. Análises realizadas a partir deste banco de dados demonstram que aqueles que pesavam mais ao nascer e, foram amamentados até um ano, tiveram menores taxas de mortalidade por DCV<sup>56</sup>.

A hipótese do “fenótipo poupador” propôs que condições desfavoráveis de nutrição materno e fetal poderiam resultar em mudanças em longo prazo na atividade hormonal ou metabólica dos filhos, envolvendo hormônios como a insulina e outros fatores metabólicos, que levaria a uma adaptação para sobrevivência<sup>57</sup>. Porém, ao longo da vida isto poderia levar a DCV através dos fatores de risco como resistência a insulina<sup>57</sup>.

Assim, a teoria sobre a origem precoce das doenças e a hipótese do fenótipo poupador são as bases teóricas dos determinantes da vida fetal e nascimento, alguns estudos sobre a relação entre peso de nascimento e a ECMIC foram relatados na revisão de literatura na introdução.

### 3.2 Determinantes na infância

Em termos de crescimento, as crianças prematuras apesar da desvantagem inicial gradualmente alcançam um peso similar às crianças nascidas a termo com peso adequado. Este “catch-up” ocorreu principalmente entre as idades médias de 23 e 47 meses. As crianças com RCIU, no entanto, não apresentam tal “catch-up”. De fato, o crescimento é sempre inferior ao das crianças prematuras e das crianças a termo<sup>58</sup>. Baseado nas evidências dos países desenvolvidos, esses sujeitos podem estar em risco para doenças cardiovasculares na vida adulta<sup>59, 60</sup>.

Outros estudos da relação entre o crescimento acelerado na infância e a ECMIC estão descritos na revisão de literatura, as bases para essa associação também estão na teoria sobre a origem precoce das doenças e no fenótipo poupador.

Além disso, também se passou a estudar padrões alimentares da infância que afetam o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, como a amamentação. Evidências sugerem que a amamentação tem efeitos positivos na saúde na vida adulta<sup>61, 62</sup>, reduzindo a pressão arterial, o colesterol total e o risco de sobrepeso/obesidade e DM tipo II.

Há três possíveis mecanismos biológicos para possível programação da amamentação sobre a pressão arterial: (1) o leite materno apresenta menor concentração de sódio do que a fórmula<sup>63</sup>; (2) os ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa estão presentes no leite humano, mas não na maioria das marcas de fórmula<sup>64</sup>; (3) o efeito da alimentação infantil inicial sobre a pressão arterial também pode ser mediada pelo sobrepeso e obesidade na idade adulta, que é um fator de risco para hipertensão<sup>65</sup>. Meta-análise<sup>61</sup> mostrou uma diferença média na pressão sistólica de -1,21 mmHg (IC 95%: -1,72; -0,70) e na pressão diastólica de -0.49 mmHg (IC 95%: -0,87; -0,11) entre os indivíduos amamentados em relação aos não amamentados.

O conteúdo de colesterol é significativamente maior no leite materno do que na maioria das fórmulas disponíveis comercialmente. A ingestão elevada

de colesterol através da amamentação na infância pode ter um efeito de programação de longo prazo sobre a síntese de colesterol por diminuição da regulação da função hepática da hidroximetilglutaril coenzima A (HMGCoA)<sup>66</sup>. Indivíduos amamentados apresentaram diferença média de colesterol total de -0,18 mmol/L (IC 95%: -0,30; -0,06). O efeito da amamentação sobre o colesterol total é significativo e maior do que o efeito de outras intervenções comportamentais (dieta, intervenção em múltiplos fatores de risco)<sup>61</sup>.

No tocante à associação entre aleitamento materno e obesidade, foram propostos vários mecanismos biológicos para o efeito protetor do aleitamento materno. Diferenças no consumo de energia e no metabolismo de proteínas pode ser um dos mecanismos que ligam a amamentação a obesidade ao longo da vida<sup>67</sup>. Além disso, outra possibilidade é que as crianças alimentadas com fórmula têm diferentes respostas hormonais a alimentação, com maior resposta à insulina, resultando em deposição de gordura e aumento do número de adipócitos<sup>68</sup>. Menor ingestão de proteínas e metabolismo energético reduzido foram registrados entre crianças amamentadas. Os indivíduos amamentados são menos propensos a apresentar sobrepeso e ou obesidade, com um OR de 0,78 (IC 95%: 0,72; 0,84)<sup>61</sup>.

Para explicar o efeito protetor do aleitamento materno sobre o DM alguns mecanismos têm sido propostos. Primeiro, observou-se que a glicemia em jejum está inversamente correlacionada com os níveis de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa na membrana do músculo esquelético<sup>69</sup>. Como os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa estão presentes no leite materno humano, porém não estão presentes na maioria das fórmulas<sup>64</sup>, tem sido proposto que as alterações na membrana do músculo esquelético desempenham um papel importante no desenvolvimento de resistência à insulina, acarretando a hiperinsulinemia compensatória. Posteriormente, haveria insuficiência de células  $\beta$  do pâncreas, resultando no desenvolvimento de DM<sup>70</sup>. Alguns estudos<sup>68, 71, 72</sup> relataram que crianças alimentadas com fórmula apresentaram maiores concentrações basais e pós-prandial de insulina e neurotensina, que modula a liberação de insulina e glucagon. Estas diferenças podem levar ao desenvolvimento de resistência à insulina e DM. A



meta-análise da OMS mostrou que os indivíduos amamentados são menos propensos a apresentar diabetes tipo II [OR 0,63 (IC 95%: 0,45; 0,89)]<sup>61</sup>.

Nesse sentido, a amamentação é um fator de proteção para as DCVs e para a ECMIC, os estudos da relação entre amamentação e a ECMIC foram descritos na revisão de literatura.

### **3.3 Determinantes na adolescência e vida adulta**

Os determinantes na adolescência e idade adulta são os fatores de risco cardiovasculares já conhecidos e foram relatados na introdução, sendo divididos em fatores de risco comportamentais e fatores de risco metabólicos. Entre os fatores de risco comportamentais estão o uso do tabaco, a inatividade física, dieta não saudável e uso nocivo do álcool. Já os fatores de risco metabólicos são o aumento da pressão arterial, o aumento da glicemia, o aumento dos lipídeos sanguíneos e o sobrepeso e obesidade.

O principal lipídeo sanguíneo envolvido na aterosclerose é o colesterol-LDL. O colesterol-LDL pode ser modificado por oxidação, glicação (por exemplo, no DM tipo 2), agregação, associação com proteoglicanos ou incorporadas em complexos imunológicos, é a maior causa de lesão do endotélio das artérias. Quando as partículas de colesterol-LDL ficam aprisionadas na artéria, elas podem sofrer oxidação progressiva e ser captadas por macrófagos, por intermédio de receptores removedores presentes na superfície dessas células. Isto leva a formação de peróxidos de lipídeos e facilita o acúmulo de ésteres de colesterol, resultando na formação de células espumosas. A maneira pela qual o colesterol-LDL é modificado pode variar bastante. A remoção do colesterol-LDL modificado caracteriza um papel protetor inicial e importante dos macrófagos na resposta inflamatória<sup>73</sup>.

O tabagismo leva a um aumento da oxidação do colesterol-LDL, aumenta a viscosidade sanguínea, aumenta os níveis de fibrinogênio e lesa diretamente o endotélio. O fumo também está associado com muitas respostas

agudas, como o aumento da frequência cardíaca e a demanda do miocárdio, vasoespasma coronariano e adesão plaquetária<sup>74</sup>.

A hipertensão arterial sistêmica age sobre o endotélio vascular que responde a estímulos do meio e a substâncias vasoativas como a angiotensina II e vasodilatador como o óxido nítrico. Estas substâncias vasoativas modulam o tônus muscular, a estrutura e a função vascular, influenciando na aterosclerose, apoptose, agregação plaquetária, adesão de monócitos e leucócitos e trombose. O equilíbrio entre vasoconstrição e vasodilatação é então quebrado, com resultante remodelação e lesão vascular<sup>73, 75</sup>.

A obesidade está relacionada como causa do aumento da incidência de hipertrofia ventricular direita ou esquerda, vasoconstrição pulmonar, pós-carga ventricular direita aumentada e hipertensão pulmonar. A cardiomiopatia da obesidade caracteriza-se por alto débito cardíaco, congestão pulmonar e sistêmica e sobrecarga (de volume e pressão) em câmaras esquerdas. Além disso, obesos apresentam maior incidência de hipertensão arterial, dislipidemia, hiperinsulinemia, DM tipo 2 e resistência insulínica. Todos estes fatores atuam sinergicamente predispondo às doenças cardiovasculares e coronárias<sup>40, 47, 48</sup>.

A obesidade além de predispor a resistência insulínica e diabetes, também contribui com a dislipidemia aterogênica. Altos níveis de ácidos graxos livres provenientes da gordura abdominal passam pelo fígado através da circulação portal e estimulam a síntese de colesterol-VLDL pelos hepatócitos. Esta elevação de colesterol-VLDL pode diminuir o colesterol-HDL por aumentar a troca de colesterol-HDL para colesterol-VLDL. O tecido adiposo pode sintetizar citocinas como fator de necrose tumoral-A e interleucina-6. Portanto a própria obesidade promove o processo inflamatório e potencia a aterosclerose independente dos efeitos na resistência à insulina ou nas lipoproteínas<sup>76</sup>.

Além disso, a obesidade de maior risco é a chamada obesidade central ou visceral, depositada no abdome e mais comum nos homens. A gordura depositada no abdome é metabolicamente muito ativa, está constantemente transformando-se em ácidos graxos livres transportados diretamente via

circulação portal para o fígado, onde são transformados principalmente em triglicérides, colesterol-VLDL e colesterol-LDL, propiciando o desenvolvimento de aterosclerose. O excesso e circulação de ácidos graxos na circulação portal e fígado afeta uma importante função deste órgão, que é a remoção parcial e inativação de insulina. Metade da insulina secretada pelo pâncreas é removida da circulação em sua primeira passagem pelo fígado. Na presença de ácidos graxos livres aumentados, menos insulina é removida da circulação. Este quadro de hiperinsulinemia estimula o sistema nervoso simpático, a retenção renal de sódio, a hipertrofia vascular e a hipertensão arterial<sup>48, 50-52</sup>.

O DM tipo 2 causa um aumento do estresse oxidativo e inflamação. O estresse oxidativo em pacientes com DM tipo 2 é indicado por um aumento de geração de ROS pelas células mononucleares circulantes, peroxidação lipídica aumentada, carbonilação protéica e formação de nitro-tirosina<sup>77</sup>. A hiperglicemia tem sido associada com anormalidades da reatividade vascular e ao aumento da agregação plaquetária e trombogenicidade<sup>77</sup>.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo geral**

Determinar a média da ECMIC aos 30 anos na coorte de nascidos vivos de 1982, em Pelotas.

Avaliar a associação entre fatores de risco precoces e contemporâneos e a ECMIC aos 30 anos na coorte de nascidos vivos de 1982, em Pelotas.

### **4.2. Objetivos específicos**

Avaliar a associação da média da ECMIC aos 30 anos nos indivíduos da coorte de 1982 com os fatores de risco precoces:

- posição socioeconômica ao nascimento;
- tabagismo materno na gestação;
- peso ao nascimento;
- crescimento acelerado na infância (“catch-up”);
- amamentação;

Avaliar a associação da média da ECMIC aos 30 anos nos indivíduos da coorte de 1982 com os fatores de risco metabólicos:

- lipídeos;
- glicemia;
- pressão arterial;
- composição corporal (obesidade geral e abdominal);

Avaliar a associação da média da ECMIC aos 30 anos nos indivíduos da coorte de 1982 com os fatores de risco comportamentais:

- sedentarismo;
- fumo;
- alimentação;
- álcool.

## 5. Hipóteses

Maior posição socioeconômica no nascimento, duração da amamentação e crescimento acelerado na infância associam-se inversamente com a ECMIC aos 30 anos;

Tabagismo materno, crianças com peso de nascimento baixo (<2.500g), alto (>4.000g) e RCIU associam-se positivamente com a ECMIC do filho aos 30 anos;

Aumento da pressão arterial, glicemia, colesterol total, triglicérides, sobrepeso e obesidade associam-se positivamente com a média da ECMIC aos 30 anos;

Sedentarismo, tabagismo, consumo de álcool e dieta não saudável associam-se positivamente com a média da ECMIC aos 30 anos.

## **6. Metodologia**

### **6.1. Delineamento**

Estudo de coorte prospectiva.

### **6.2. Metodologia da Coorte de 1982**

Todas as 5914 crianças nascidas vivas em 1982 na cidade de Pelotas, cujas mães residiam na zona urbana do município no momento do parto, foram identificadas e as mães entrevistadas. Entre as crianças nascidas vivas, menos de 1% das mães recusaram a participar do estudo. Nesta primeira fase foi investigada a saúde materno-infantil, as condições socioeconômicas da família e intercorrências gestacionais. Atualmente esta é considerada como sendo a maior e mais longa coorte de nascimentos dos países em desenvolvimento<sup>78</sup>.

Posteriormente foram realizados outros acompanhamentos, incluindo visitas domiciliares às crianças quando estavam em média com 12, 20 e 43 meses de idade. Aos 53 meses foi realizado um estudo do Desenvolvimento Mental e Psicomotor. A ocorrência de óbitos entre os participantes da coorte tem sido monitorada. Nestes acompanhamentos, aplicava-se às mães ou responsáveis pela criança questionários padronizados incluindo informações sobre variáveis socioeconômicas, demográficas, ambientais e dados sobre dieta, saúde e utilização de serviços médicos, além do desenvolvimento infantil.

Em 2000, os participantes da coorte do sexo masculino que ainda moravam em Pelotas foram identificados na ocasião do Alistamento Militar e uma entrevista foi realizada no momento do exame médico. A entrevista incluiu a aplicação de um questionário padronizado e a coleta de medidas de pressão arterial, peso, altura, circunferência da cintura e função pulmonar. Participaram desta fase 2250 adolescentes. As informações obtidas nesse questionário foram condições socioeconômicas, hábitos de vida (tabagismo, uso de drogas e atividade física), alimentação, trabalho, morbidade, escolaridade, uso de medicação, sexualidade, saúde mental, saúde da mulher e utilização de serviços de saúde.

Em 2004, foi realizado um novo acompanhamento, quando se tentou acompanhar todos os participantes da coorte. Foram avaliados 4297 indivíduos e identificados 282 óbitos. A entrevista incluiu a aplicação de questionário padronizado e a medida de pressão arterial, peso, altura, circunferência da cintura e função pulmonar. As informações obtidas nesta visita foram condições socioeconômicas atuais, hábitos de vida (tabagismo, uso de drogas ilícitas e atividade física), alimentação, trabalho, morbidade, escolaridade, consumo de medicação, sexualidade, saúde mental, saúde da mulher e utilização de serviços de saúde. Nesse acompanhamento também foi realizada a coleta de uma amostra de sangue, 3914 indivíduos participaram desta fase do estudo. A partir dessa coleta de sangue foi possível realizar a medida do colesterol-HDL, triglicérides e proteína C-reativa, além disso no momento da entrevista foi realizada a medida da glicose (polpa digital) e a tipagem sanguínea.

Em 2012 foi realizado o acompanhamento dos 30 anos, as entrevistas e exames foram realizados no Centro de Pesquisas Epidemiológicas. Os participantes da coorte foram convidados por chamadas televisivas na RBS TV e por telefone para comparecerem a clínica e, após preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) - anexo 1 -, realizar entrevista e exames: pressão arterial, dinamometria (avaliação da força muscular), antropometria (peso, altura, pregas cutâneas e circunferência da cintura), Bod Pod (que mede o volume do corpo), DXA (mede a densidade dos ossos), US de abdômen (para avaliar a quantidade de gordura no abdômen) e carótidas (para avaliar aterosclerose), Photonic Scanner (foto tridimensional que avalia as circunferências do corpo), acelerometria (avaliação da atividade física), espirometria (avaliação da função pulmonar), coleta de sangue (a fim de analisar a glicemia, perfil lipídico, proteína C-Reativa e DNA).

Nesse acompanhamento foram entrevistados 3701 indivíduos, foram considerados válidos os resultados de média da ECMIC da artéria carótida esquerda de 3012 indivíduos e da carótida direita de 2924 indivíduos.



### **6.3. População alvo**

Todos os indivíduos que nasceram em 1982, cuja família residia na área urbana da cidade de Pelotas, RS.

### **6.4. Critérios de inclusão**

Todos os nascidos em 1982 em Pelotas, de mães residentes na área urbana e que foram avaliados na visita de 2012.

### **6.5. Critérios de exclusão**

Indivíduos que nasceram em Pelotas no ano de 1982, mas a família residia na zona rural ou em outro município.

### **6.6. Cálculo do tamanho da amostra**

Os dados dos indivíduos utilizados no presente projeto foram coletados durante os acompanhamentos da coorte de 1982 já realizados. Nesse sentido, no lugar de efetuar o cálculo do tamanho de amostra tradicional, foram estimadas as mínimas diferenças detectáveis, utilizando o comando *sampsi* do programa Stata 12.0. Foi realizado o cálculo do poder que seria possível detectar considerando um  $N=2900$ , uma diferença de médias de 0,01 mm e 0,02 mm, com um  $DP=0,05$ , considerando um também um alfa de 5%, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Estimação do poder da amostra para diferentes médias, diferentes desvios padrão e diferente proporção de tamanho de amostra.

Média 1	Média 2	Desvio Padrão	Razão (N2/N1)	N1	N2	Poder (%)
0,5700	0,5800	0,05	0,10	2700	270	88,0
0,5700	0,5800	0,05	0,20	2400	480	97,9
0,5700	0,5800	0,05	0,30	2000	600	99,0
0,5700	0,5800	0,05	0,40	2000	800	99,8
0,5700	0,5900	0,05	0,10	2700	270	100,0
0,5700	0,5900	0,05	0,20	2200	440	100,0
0,5700	0,5900	0,05	0,30	2000	600	100,0
0,5700	0,5900	0,05	0,40	2000	800	100,0

## **6.7. Instrumentos**

Os instrumentos relacionados à avaliação das principais variáveis de interesse para este projeto estão apresentados a seguir.

- **Ultrassom de Carótidas**

A coleta das imagens para análise da média da ECMIC foi realizada, após treinamento, seleção e padronização, por duas técnicas em radiologia, com o aparelho de ultrassom do modelo Xario “Premium Compact” fabricado pela Toshiba. O Consenso de Mannheim (atualizado em 2012) padronizou a coleta da medida ultrassonográfica do complexo médio-intimal carotídeo para permitir comparabilidade entre os estudos<sup>7</sup>.

Conforme a Figura 1, o final da artéria carótida comum é demarcado pela dilatação das paredes do vaso, formando o chamado bulbo carotídeo. Carótida comum distal é o segmento da artéria carótida comum imediatamente proximal à origem do bulbo carotídeo, local em que as paredes proximal e distal são paralelas entre si. A recomendação estabelecida para a caracterização do complexo médio-intimal carotídeo é a visualização do padrão de dupla linha visualizada por US nas paredes anterior e posterior das artérias carótidas comum direita e esquerda, em plano longitudinal, sendo formada por duas linhas paralelas, que consistem do limite anatômico da interface íntima-lúmen e média-adventícia.

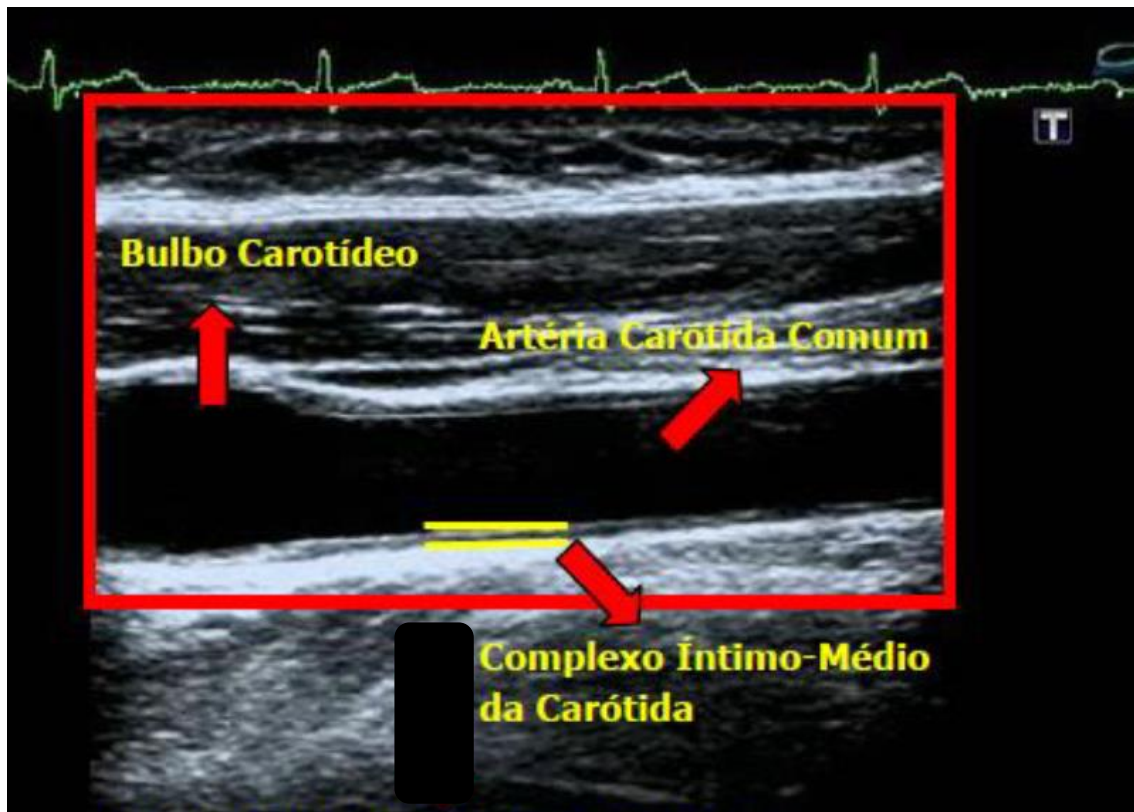


Figura 2. Localização das estruturas da artéria carótida comum.

### **Protocolo de Documentação**

As carótidas foram avaliadas bilateralmente, no segmento distal da artéria carótida comum conforme o Consenso de Mannheim<sup>7</sup>, o manual completo encontra-se no anexo 4.

### **Sumário do Protocolo de Exame:**

#### **Coleta das imagens (clip)**

- a) O sonografista realizava a varredura no eixo transversal, iniciando no plano da bifurcação carotídea (no plano do ângulo da mandíbula), incluindo o bulbo carotídeo e terminando no segmento distal da carótida comum, com a duração de 5 segundos. O objetivo do exame

inicial é orientar o sonografista em relação ao trajeto anatômico dos segmentos de interesse do território carotídeo do indivíduo.

- b) Em seguida a imagem da carótida comum distal era realizada no eixo longitudinal a partir do início do bulbo, sendo gravada de modo dinâmico, duração da gravação de 3 segundos, totalizando 90 frames.

A imagem da carótida comum distal era obtida, em modo B dinâmico, no sentido longitudinal, com transdutor linear, com profundidade de 4 cm, pré-estabelecida no “preset” do equipamento, devendo ser mantida constante no decorrer do exame, de ambos os lados. O leitor assumia que a magnificação permaneceu constante.

### **Análise das imagens coletadas**

A medida da ECMIC pode ser realizada por análise manual ou automática, ambas com igual validade, sendo que a manual consome mais tempo e necessita de rigoroso controle de qualidade, enquanto a medição automática é mais rápida e faz medidas repetidas de um segmento (estima a média)<sup>7, 79</sup>. Neste estudo se optou pela leitura no modo automático. As análises das imagens foram realizadas no modo automático com o software *Carotid Analyzer for Research, Medical Imaging Application* (MIA- LLC) em 10 mm de extensão na carótida comum anterior ao bulbo carotídeo. O software estima de modo automático a média de 90 medidas (frames) obtidas nos 10 mm de extensão.

#### **• Questionário geral**

Foram utilizados questionários com um manual de instruções: um questionário geral composto por 587 perguntas, incluindo 21 blocos com questões sobre saúde, hospitalização, uso de medicamentos, atividade física, hábitos e opiniões, além de informações demográficas e socioeconômicas, aplicado pelas entrevistadoras.

- **Questionário de Frequência Alimentar (QFA)**

O QFA composto por 88 itens alimentares foi desenvolvido com base nos questionários alimentares de outros acompanhamentos sendo em versão eletrônica e auto aplicado.

- **Demais equipamentos utilizados:**

Estadiômetro desmontável (alumínio e madeira) com precisão de 0,1 cm, banco de madeira com 75 cm de altura para a aferição da altura sentada, fita métrica inextensível com precisão de 0,1 cm, plicômetro CESCORF científico com precisão de 0,1 mm e dinamômetro digital da marca *JAMAR PLUS*.

Aparelho de pressão arterial automático, modelo HEM-705CPINT com manguitos de braço da marca Omron. Um manguito para pessoas de peso normal e outro para obesos.

## 6.8. Principais variáveis a serem utilizadas

### Variável dependente (desfecho)

As médias da ECMIC da artéria carótida comum esquerda e direita serão utilizadas como variáveis contínuas, utilizando como unidade de medida milímetros (mm).

### Variáveis independentes (definição das exposições)

- **Peso ao nascer:** peso em gramas coletada no estudo perinatal.
- **Retardo do crescimento intra-uterino (RCIU):** definido pelo peso ao nascer abaixo do percentil 10 de peso de acordo com o sexo e a idade gestacional da curva de Williams<sup>80</sup>.
- **Baixo peso ao nascer (BPN):** nascido vivo com peso ao nascer inferior a 2.500 gramas (proporção).
- **Amamentação:** duração da amamentação em meses coletada durante a infância.
- **Catch-up:** definido como o crescimento em peso do nascimento até 20 meses, através de uma mudança em escore-z  $\geq 0,66$ . O crescimento médio foi definido como uma mudança de escore-z entre -0,65 e 0,65 e crescimento pobre como uma mudança  $\leq -0,65$  escore-z. Este sistema permite tanto uma comparação das crianças de crescimento rápido contra todas as outras crianças, além de avaliar efeito dose-resposta, conforme utilizado por Victora (2001)<sup>81</sup>.
- **Alimentação atual:** padrão de consumo de alimentos, a partir das informações alimentares detalhadas do questionário, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Atividade física atual:** escore de atividade física em minutos no deslocamento, lazer, doméstico ou trabalho, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Fumo:** se atualmente fuma pelo menos uma vez por semana, já fumou ou nunca fumou, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.

- **Álcool:** se atualmente bebe pelo menos uma dose de álcool por dia (14 gramas), esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Pressão arterial:** medida da pressão arterial sistólica e diastólica (em mmHg) com esfigmomanômetro de pulso digital, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Glicemia:** obtido pela análise sanguínea da glicemia (mg/dL), esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Colesterol total:** obtido pela análise sanguínea do colesterol total (mg/dL), esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Peso:** (em kg) obtido pela pesagem em balanças, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Altura:** (em m) obtida utilizando-se antropômetro padronizado, com o indivíduo com a cabeça no plano de Frankfurt, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Índice de massa corporal (IMC):** calculado dividindo-se o peso em quilogramas pelo quadrado da altura em metros, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Circunferência abdominal:** medida em pé, com os braços relaxados ao lado do corpo e os pés juntos, a fita é colocada no plano horizontal ao nível da cintura natural, parte mais estreita do tronco, entre a última costela e a crista ilíaca, ao final de uma expiração normal, sem comprimir a pele, registrada com precisão de 0,1 cm, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.

#### **Possíveis fatores de confusão**

- **Escolaridade dos pais:** em anos de escolaridade coletada no estudo perinatal.
- **Nível econômico dos pais:** renda dos pais coletada no estudo perinatal.
- **Fumo materno:** se a mãe fumou durante a gestação coletada no estudo perinatal.



- **Cor da pele:** branca, preta ou negra, parda, amarela ou indígena, classificado pelo indivíduo, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Sexo:** masculino ou feminino, pela observação do entrevistador, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Escolaridade atual:** em anos de escolaridade, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Nível econômico atual:** renda familiar atual em reais, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.
- **Classe social atual:** ABEP atual, esta variável foi coletada na visita dos 30 anos.

### **6.9. Seleção e treinamento dos entrevistadores**

Entrevistadores com nível médio completo foram treinados para aplicação dos questionários e realização dos exames de composição corporal. Após o treinamento, os entrevistadores selecionados realizaram um estudo piloto, para adequação da logística do estudo.

## **6.10. Logística**

Ao final do ano de 2011 e início de 2012, os indivíduos pertencentes à coorte de 1982 receberam jornais informativos com o resumo de alguns resultados da coorte e recomendações sobre a saúde. Essa visita foi realizada por motociclistas que foram treinados para identificação dos membros da coorte através dos endereços disponíveis e para um contato de esclarecimento sobre as diversas fases desse estudo. Além disso, essa visita teve o intuito de coletar assinaturas necessárias ao envio de material biológico para análise no exterior, atualizar os endereços e telefones para o acompanhamento de 2012 e, também, distribuir material informativo sobre a coorte.

Com base nos dados cadastrais atualizados, foram geradas listas mensais de entrevistas e os indivíduos foram contatados através de ligações telefônicas, sendo convidados a visitar a clínica localizada nas instalações do Programa em Pós-Graduação em Epidemiologia da UFPel (PPGE/UFPel) para realização da entrevista, exames e avaliação da composição corporal.

Durante a visita na clínica, todos os participantes responderam os questionários aplicados em netbook, no qual foram coletadas informações de nível socioeconômico, escolaridade, eventos estressores, amizade, religião, saúde da mulher, qualidade de vida, emprego, composição familiar, uso de serviços de saúde, acidentes, atividade física, saúde mental, lazer, consumo alimentar, morbidade, internações hospitalares, álcool e fumo. Questionário confidencial impresso também foi aplicado abordando questões sobre uso de drogas, violência e sexualidade.

Além dos exames de composição corporal (DXA, BOD POD®, Photonic Scanner, ultrassom abdominal), foram conduzidas avaliações antropométricas de peso, altura, circunferências. Também foram realizados outros exames para avaliação sobre outros aspectos de saúde como função pulmonar, espessura do complexo médio intimal carotídeo, pressão arterial, coleta de sangue e saliva e força de preensão manual.

Todos os membros da coorte que aceitaram participar do estudo receberam ajuda de custo para cobrir os gastos com o seu deslocamento até a clínica, além de lanche ao final dos exames.

### **6.11. Estudo piloto**

Indivíduos com idade próxima aos 30 anos, que não faziam parte da coorte de Pelotas de 1982, participaram do estudo piloto. O objetivo do estudo piloto foi de testar os instrumentos e organizar o fluxo de realização dos exames.

### **6.12. Limitações do estudo**

As limitações do delineamento de estudos de coorte que se aplicam para este estudo incluem perda de seguimento e interesse em participar do estudo, longos períodos (no caso 30 anos), porém neste acompanhamento foram entrevistados 3701 indivíduos, tendo um bom número de participantes se considerarmos o período de 30 anos de acompanhamento.

Em relação ao desfecho ECMIC aconteceram algumas perdas devido a não aceitação em participar da coleta do exame de US, mas participação na entrevista. O US é um exame examinador-dependente, ou seja, depende da experiência do examinador para conseguir qualidade na coleta do exame, foram treinadas quatro técnicas de radiologia, sendo selecionadas as duas com resultados melhores comparados com o padrão-ouro, técnico previamente treinado em outro estudo nacional.

Ao final do acompanhamento foram considerados válidos resultados de média da ECMIC da artéria carótida esquerda de 3012 indivíduos e da carótida direita de 2924 indivíduos, sendo considerado um bom número tendo em vista todas as dificuldades relatadas.

## **7. Coleta dos dados**

Durante o acompanhamento de 2012 os integrantes da coorte de 1982 receberam um crachá constando os nomes de todos os testes e procedimentos que foram realizados, para que fosse possível controlar o fluxo da entrevista e dos exames. Este fluxo foi acompanhado por supervisores do trabalho de campo durante toda a coleta de dados que foi realizada por entrevistadoras previamente treinadas para aplicação dos instrumentos.

## **8. Controle de qualidade**

Foi realizado controle de qualidade através de inconsistência dos bancos de dados à medida que eles eram sendo alimentados com os dados dos participantes. As entrevistadoras eram periodicamente treinadas e calibradas. Todos os equipamentos utilizados obedeceram aos critérios de calibração recomendados pelos fabricantes. Também foram realizadas ligações telefônicas com questionário reduzido para verificar a concordância.

## **9. Processamento de dados**

As informações coletadas pelos questionários e outros instrumentos eram digitadas e/ou armazenadas diretamente nos aparelhos e transmitidas eletronicamente para as bases de dados. Todos os dados foram armazenados através da entrada programada em formulário eletrônico. As informações provenientes dos diferentes instrumentos foram reunidas e processadas para posterior processamento e análise no programa estatístico Stata 12.0.

## 10. Análise dos dados

A análise dos dados será realizada utilizando o pacote estatístico *Stata* 12.0, baseado nas informações correspondentes a cada um dos acompanhamentos da coorte de 1982. Serão realizadas análises brutas e ajustadas, obedecendo ao modelo de análise hierárquica proposto por Victora (1997)<sup>82</sup>.

Para exploração dos dados serão realizadas verificações de normalidade do desfecho para cada sítio a partir de histograma de frequências, curtose, assimetria e coeficiente de variação. Já na análise descritiva serão mostrados valores de médias e desvios-padrão das variáveis contínuas, ou as proporções das diferentes categorias das variáveis quando forem categorizadas. Para as análises iniciais serão utilizados os testes de qui-quadrado para variáveis categóricas (comparações entre proporções) e a ANOVA (comparações de médias) para variáveis contínuas. Quando as exposições foram variáveis ordinais será utilizado o teste de heterogeneidade e o de tendência linear para calcular o valor de p. O nível de significância estatístico será de 5%.

No Artigo 1 será realizada uma revisão Sistemática e Meta-Análise sobre a associação entre Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo e Amamentação nas bases de dados EMBASE, Web of Science, Science Direct, Medline, Lilacs e Scielo com o objetivo de reunir o que há publicado sobre amamentação e a ECMIC.

No Artigo 2 as exposições serão condições de nascimento (peso ao nascer, RCIU e PIG), amamentação e crescimento na infância (“catch-up”). Serão ajustadas para possíveis fatores de confusão como as variáveis demográficas (sexo e cor da pele) e socioeconômicas (escolaridade dos pais, nível econômico dos pais) e também para mediadores no caminho causal como os fatores de risco comportamentais aos 30 anos (tabaco, inatividade física, padrão alimentar e álcool) e os fatores de risco metabólicos aos 30 anos (pressão arterial, glicemia, lipídeos sanguíneos e sobrepeso e obesidade), utilizando regressão linear múltipla, modelos de equações estruturais e G-

fórmula. A análise do crescimento (catch-up) será condicional conforme descrito por Owen (2000)<sup>83</sup>.

No Artigo 3 as exposições serão os fatores de risco comportamentais aos 30 anos (tabaco, inatividade física, padrão alimentar e álcool) e os fatores de risco metabólicos aos 30 anos (pressão arterial, glicemia, lipídeos sanguíneos e sobrepeso e obesidade) serão realizados testes e ajustes para possíveis fatores de confusão como as variáveis demográficas (sexo e cor da pele) e as socioeconômicas (escolaridade dos pais, nível econômico dos pais).

## **11. Material**

O material utilizado neste projeto foi descrito durante o projeto e no acompanhamento da coorte de 1982.

## **12. Aspectos éticos**

Em todos os acompanhamentos do estudo da coorte de 1982 foi coletado o consentimento informado por escrito dos participantes do estudo. O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Pelotas, afiliado ao Conselho Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde, aprovou todos os protocolos de estudos com a coorte de nascidos de 1982 até hoje.

Indivíduos com resultados alterados nos exames físicos foram encaminhados para Unidades Básicas de Saúde e Hospitais Universitários para investigação mais detalhada, quando necessário. Em relação ao desfecho principal deste projeto que é a ECMIC uma vez que não existem recomendações específicas nem para o tratamento nem para o monitoramento de valores da ECMIC não havia necessidade para encaminhamento.

### 13. Cronograma

ANO	2011				2012				2013				2014			
TRIMESTRE	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Revisão Bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
Elaboração do projeto	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					
Estudo piloto						x										
Trabalho de campo						x	x	x	x							
Análise dos dados												x	x			
Redação dos artigos													x	x	x	x
Defesa de tese																x



#### **14. Divulgação dos Resultados**

Os três artigos resultantes do presente projeto serão publicados em revistas científicas nacionais e/ou internacionais devidamente indexadas. Adicionalmente será enviado resumo com os principais resultados para divulgação na imprensa local.

#### **15. Orçamento/ financiamento**

Este estudo está inserido no Estudo de Coorte de Crianças Nascidas em 1982 na Cidade de Pelotas, RS, o qual é financiado pela Fundação Wellcome Trust. Este projeto não demandará de financiamento extra.

## 16. Referências Bibliográficas

1. Mendis S, Puska P, Norrving B, World Health Organization. World Heart Federation. World Stroke Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: World Health Organization in collaboration with the World Heart Federation and the World Stroke Organization; 2011. vi, 155 p. p.
2. DATASUS (2010). "Índice de mortalidade." [database on the Internet]. 2010. Available from: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2010/matriz.htm>.
3. Mendis S, Nordet P, Fernandez-Britto JE, Sternby N. Atherosclerosis in children and young adults: An overview of the World Health Organization and International Society and Federation of Cardiology study on Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth study (1985–1995). *Prevention and Control*. 2005;1(1):3-15.
4. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-Artery Intima and Media Thickness as a Risk Factor for Myocardial Infarction and Stroke in Older Adults. *New England Journal of Medicine*. 1999;340(1):14-22.
5. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74(6):1399-406.
6. Amato M, Montorsi P, Ravani A, Oldani E, Galli S, Ravagnani PM, et al. Carotid intima-media thickness by B-mode ultrasound as surrogate of coronary atherosclerosis: correlation with quantitative coronary angiography and coronary intravascular ultrasound findings. *European Heart Journal*. 2007;28(17):2094-101.
7. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovascular Diseases*. 2012;34(4):290-6.

8. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of Clinical Cardiovascular Events With Carotid Intima-Media Thickness. *Circulation*. 2007;115(4):459-67.
9. D'Agostino RB Sr, Grundy S, Sullivan LM, Wilson P. Validation of the framingham coronary heart disease prediction scores: Results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA*. 2001;286(2):180-7.
10. Baldassarre D, Amato M, Pustina L, Castelnovo S, Sanvito S, Gerosa L, et al. Measurement of carotid artery intima-media thickness in dyslipidemic patients increases the power of traditional risk factors to predict cardiovascular events. *Atherosclerosis*. 2007;191(2):403-8.
11. Den Ruijter HM, Peters SA, Anderson TJ, Britton AR, Dekker JM, Eijkemans MJ, et al. Common carotid intima-media thickness measurements in cardiovascular risk prediction: A meta-analysis. *JAMA*. 2012;308(8):796-803.
12. Lamont D, Parker L, White M, Unwin N, Bennett SMA, Cohen M, et al. Risk of cardiovascular disease measured by carotid intima-media thickness at age 49-51: lifecourse study. *BMJ*. 2000;320(7230):273-8.
13. Geerts CC, Bots ML, van der Ent CK, Grobbee DE, Uiterwaal CSPM. Parental Smoking and Vascular Damage in Their 5-year-old Children. *Pediatrics*. 2012;129(1):45-54.
14. Gale CR, Ashurst HE, Hall NF, MacCallum PK, Martyn CN. Size at birth and carotid atherosclerosis in later life. *Atherosclerosis*. 2002;163(1):141-7.
15. Oren A, Vos LE, Uiterwaal CSPM, Gorissen WHM, Grobbee DE, Bots ML. Birth weight and carotid intima-media thickness: new perspectives from the atherosclerosis risk in young adults (ARYA) study. *Annals of epidemiology*. 2004;14(1):8-16.
16. Hovi P, Turanlahti M, Strang-Karlsson S, Wehkalampi K, Järvenpää A-L, Eriksson JG, et al. Intima-Media Thickness and Flow-Mediated Dilatation in the Helsinki Study of Very Low Birth Weight Adults. *Pediatrics*. 2011;127(2):e304-e11.

17. Dratva J, Breton CV, Hodis HN, Mack WJ, Salam MT, Zemp E, et al. Birth Weight and Carotid Artery Intima-Media Thickness. *The Journal of Pediatrics*. 2012(0).
18. Tanner JM. Catch-up growth in man. *British Medical Bulletin*. 1981;37(3):233-8.
19. Adair LS, Fall CHD, Osmond C, Stein AD, Martorell R, Ramirez-Zea M, et al. Associations of linear growth and relative weight gain during early life with adult health and human capital in countries of low and middle income: findings from five birth cohort studies. *The Lancet*. 2013;382(9891):525-34.
20. Leunissen RWJ, Kerkhof GF, Stijnen T, Hokken-Koelega ACS. Effect of Birth Size and Catch-Up Growth on Adult Blood Pressure and Carotid Intima-Media Thickness. *Hormone Research in Paediatrics*. 2012;77(6):394-401.
21. Skilton MR, Marks GB, Ayer JG, Garden FL, Garnett SP, Harmer JA, et al. Weight Gain in Infancy and Vascular Risk Factors in Later Childhood. *Pediatrics*. 2013;131(6):e1821-e8.
22. Evelein AMV, Visseren FLJ, van der Ent CK, Grobbee DE, Uiterwaal CSPM. Excess Early Postnatal Weight Gain Leads to Thicker and Stiffer Arteries in Young Children. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013.
23. Evelein AM, Geerts CC, Visseren FL, Bots ML, van der Ent CK, Grobbee DE, et al. The association between breastfeeding and the cardiovascular system in early childhood. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;93(4):712-8.
24. Jarvisalo MJ, Hutri-Kahonen N, Juonala M, Mikkila V, Rasanen L, Lehtimaki T, et al. Breast feeding in infancy and arterial endothelial function later in life. *The Cardiovascular Risk in Young Finns Study*. *Eur J Clin Nutr*. 2008;63(5):640-5.
25. Martin RM, Ebrahim S, Griffin M, Smith GD, Nicolaides AN, Georgiou N, et al. Breastfeeding and Atherosclerosis: Intima-Media Thickness and Plaques

at 65-Year Follow-Up of the Boyd Orr Cohort. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2005;25(7):1482-8.

26. Howard G, Burke GL, Szklo M, Tell GS, Eckfeldt J, Evans G, et al. Active and passive smoking are associated with increased carotid wall thickness: The atherosclerosis risk in communities study. *Archives of Internal Medicine*. 1994;154(11):1277-82.

27. Raitakari OT, Juonala M, Kähönen M, Taittonen L, Laitinen T, Mäki-Torkko N, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: The cardiovascular risk in young finns study. *JAMA*. 2003;290(17):2277-83.

28. WHO. *Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health*. Geneva. World Health Organization. 2010.

29. Meyer AA, Kundt G, Lenschow U, Schuff-Werner P, Kienast W. Improvement of Early Vascular Changes and Cardiovascular Risk Factors in Obese Children After a Six-Month Exercise Program. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;48(9):1865-70.

30. Nordstrom CK, Dwyer KM, Merz CNB, Shircore A, Dwyer JH. Leisure time physical activity and early atherosclerosis: the Los Angeles Atherosclerosis Study. *The American Journal of Medicine*. 2003;115(1):19-25.

31. Mente A, de Koning L, Shannon HS, Anand SS. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Archives of Internal Medicine*. 2009;169(7):659-69.

32. Murie-Fernandez M, Irimia P, Toledo E, Martínez-Vila E, Buil-Cosiales P, Serrano-Martínez M, et al. Carotid intima-media thickness changes with Mediterranean diet: A randomized trial (PREDIMED-Navarra). *Atherosclerosis*. 2011;219(1):158-62.

33. Juonala M, Viikari JSA, Kähönen M, Laitinen T, Taittonen L, Loo B-M, et al. Alcohol consumption is directly associated with carotid intima-media

thickness in Finnish young adults: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):e93-e8.

34. Zyriax BC, Lau K, Klahn T, Boeing H, Volzke H, Windler E. Association between alcohol consumption and carotid intima-media thickness in a healthy population: data of the STRATEGY study (Stress, Atherosclerosis and ECG Study). *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(10):1199-206.

35. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003;42(6):1206-52.

36. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa. *Vigitel Brasil 2010: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Gestão Estratégica e Participativa*. Brasília : Ministério da Saúde,. 2011.

37. Pauletto P, Palatini P, Da Ros S, Pagliara V, Santipolo N, Baccillieri S, et al. Factors Underlying the Increase in Carotid Intima-Media Thickness in Borderline Hypertensives. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1999;19(5):1231-7.

38. Toikka JO, Laine H, Ahotupa M, Haapanen A, Viikari JSA, Hartiala JJ, et al. Increased Arterial Intima-Media Thickness and In Vivo LDL Oxidation in Young Men With Borderline Hypertension. *Hypertension*. 2000;36(6):929-33.

39. Di Bello V, Carerj S, Perticone F, Benedetto F, Palombo C, Talini E, et al. Carotid Intima-Media Thickness in Asymptomatic Patients With Arterial Hypertension Without Clinical Cardiovascular Disease: Relation With Left Ventricular Geometry and Mass and Coexisting Risk Factors. *Angiology*. 2009;60(6):705-13.

40. Davis PH, Dawson JD, Riley WA, Lauer RM. Carotid Intimal-Medial Thickness Is Related to Cardiovascular Risk Factors Measured From Childhood Through Middle Age. *Circulation*. 2001;104(23):2815-9.

41. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2011. *Diabetes Care*. 2011;34(Supplement 1):S11-S61.
42. Brohall G, Odén A, Fagerberg B. Carotid artery intima-media thickness in patients with Type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance: a systematic review. *Diabetic Medicine*. 2006;23(6):609-16.
43. Brohall G, Schmidt C, Behre CJ, Hulthe J, Wikstrand J, Fagerberg B. Association between impaired glucose tolerance and carotid atherosclerosis: A study in 64-year-old women and a meta-analysis. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2009;19(5):327-33.
44. Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, Halsey J, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55 000 vascular deaths. *The Lancet*. 2007;370(9602):1829-39.
45. Fan AZ, Dwyer JH. Sex differences in the relation of HDL cholesterol to progression of carotid intima-media thickness: The Los Angeles Atherosclerosis Study. *Atherosclerosis*. 2007;195(1):e191-e6.
46. Labreuche J, Touboul P-J, Amarenco P. Plasma triglyceride levels and risk of stroke and carotid atherosclerosis: A systematic review of the epidemiological studies. *Atherosclerosis*. 2009;203(2):331-45.
47. Pizzi J, Silva LRd, Moser D, Leite N. Relação entre aterosclerose subclínica, pressão arterial e perfil lipídico em crianças e adolescentes obesos: uma revisão sistemática. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2013;57:1-6.
48. De Michele M, Panico S, Iannuzzi A, Celentano E, Ciardullo AV, Galasso R, et al. Association of Obesity and Central Fat Distribution With Carotid Artery Wall Thickening in Middle-Aged Women. *Stroke*. 2002;33(12):2923-8.
49. Bosello O, Zamboni M. Visceral obesity and metabolic syndrome. *Obesity Reviews*. 2000;1(1):47-56.

50. Pouliot MC, Després JP, Lemieux S, Moorjani S, Bouchard C, Tremblay A, et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol* 1994 Mar 1;73(7):460-8. 1994.
51. Grundy SM. Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2595-600.
52. Shen Y, Zhang L, Zong WH, Wang Z, Zhang Y, Yang MJ, et al. Correlation between Waist Circumference and Carotid Intima-Media Thickness in Women from Shanghai, China. *Biomedical and Environmental Sciences*. 2013;26(7):531-8.
53. Maher V, O'Dowd M, Carey M, Markham C, Byrne A, Hand E, et al. Association of central obesity with early Carotid intima-media thickening is independent of that from other risk factors. *Int J Obes*. 2008;33(1):136-43.
54. Tracy RE, Newman Iii WP, Wattigney WA, Srinivasan SR, Strong JP, Berenson GS. Histologic features of atherosclerosis and hypertension from autopsies of young individuals in a defined geographic population: the Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis*. 1995;116(2):163-79.
55. Barker DJP. The origins of the developmental origins theory. *Journal of Internal Medicine*. 2007;261(5):412-7.
56. Barker DJP. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ*. 1990;301(6761):1111-.
57. Hales CN, Barker DJP. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992;35(7):595-601.
58. Barros FC, Huttly SRA, Victora CC, Kirkwood BR, Vaughan JP. Comparison of the Causes and Consequences of Prematurity and Intrauterine Growth Retardation: A Longitudinal Study in Southern Brazil. *Pediatrics*. 1992;90(2):238-44.



59. Hokken-Koelega ACS, De Ridder MAJ, Lemmen RJ, Hartog HD, De Muinck Keizer-Schrama SMPF, Drop SLS. Children Born Small for Gestational Age: Do They Catch Up[quest]. *Pediatr Res.* 1995;38(2):267-71.
60. Karlberg J, Albertsson-Wikland K. Growth in Full- Term Small-for-Gestational-Age Infants: From Birth to Final Height. *Pediatr Res.* 1995;38(5):733-9.
61. Horta BL, Bahl R, Martines JC, Victora CG. Evidence on the long-term effects of breastfeeding. Systematic reviews and meta-analyses. World Health Organization Publication: Geneva, Switzerland. 2007.
62. Agostoni C, Braegger C, Decsi T, Kolacek S, Koletzko B, Michaelsen KF, et al. Breast-feeding: A Commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2009;49(1):112-25.
63. Fomon SJ. Infant Feeding in the 20th Century: Formula and Beikost. *The Journal of Nutrition.* 2001;131(2):409S-20S.
64. Koletzko B, Agostoni C, Carlson SE, Clandinin T, Hornstra G, Neuringer M, et al. Long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Pædiatrica.* 2001;90(4):460-4.
65. Perry IJ, Whincup PH, Shaper AG. Environmental factors in the development of essential hypertension. *British Medical Bulletin.* 1994;50(2):246-59.
66. Wong WW, Hachey DL, Insull W, Opekun AR, Klein PD. Effect of dietary cholesterol on cholesterol synthesis in breast-fed and formula-fed infants. *Journal of Lipid Research.* 1993;34(8):1403-11.
67. Whitehead RG. For How Long Is Exclusive Breast-feeding Adequate to Satisfy the Dietary Energy Needs of the Average Young Baby? *Pediatr Res.* 1995;37(2):239-43.

68. Lucas A, Blackburn AM, Aynsley-Green A, Sarson DL, Adrian TE, Bloom SR. Breast vs bottle: endocrine responses are different with formula feeding. *The Lancet*. 1980;315(8181):1267-9.
69. Baur LA, O'Connor J, Pan DA, Kriketos AD, Storlien LH. The fatty acid composition of skeletal muscle membrane phospholipid: Its relationship with the type of feeding and plasma glucose levels in young children. *Metabolism*. 1998;47(1):106-12.
70. Arslanian S. Type 2 Diabetes in Children: Clinical Aspects and Risk Factors. *Hormone Research in Paediatrics*. 2002;57(suppl 1)(Suppl. 1):19-28.
71. Aynsley-Green A. The endocrinology of feeding in the newborn. *Baillière's clinical endocrinology and metabolism*. 1989;3(3):837.
72. Salmenpera L, Perheentupa J, Siimes MA, Adrian TE, Bloom SR, Aynsley-Green A. Effects of feeding regimen on blood glucose levels and plasma concentrations of pancreatic hormones and gut regulatory peptides at 9 months of age: comparison between infants fed with milk formula and infants exclusively breast-fed from birth. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1988;7(5):651-6.
73. Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine*. 1999;340(2):115-26.
74. Frohlich J, Dobiasova M, Lear S, Lee KWJ. The Role of Risk Factors in the Development of Atherosclerosis. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2001;38(5):401-40.
75. Schiffrin EL. Beyond blood pressure: the endothelium and atherosclerosis progression. *Am J Hypertens*. 2002;15(10 Pt 2):115S-22S.
76. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105(9):1135-43.
77. Dandona P, Aljada A. A rational approach to pathogenesis and treatment of type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, inflammation, and

atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*. 2002;90(5, Supplement 1):27-33.

78. Barros FC, Victora CG, Horta BL, Gigante DP. Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004-5, Pelotas, RS. *Revista de Saúde Pública*. 2008;42:7-15.

79. Bots ML, Sutton-Tyrrell K. Lessons From the Past and Promises for the Future for Carotid Intima-Media Thickness. *Journal of the American College of Cardiology*. 2012;60(17):1599-604.

80. Williams RL, Creasy RK, Cunningham GC, Hawes WE, Norris FD, Tashiro M. Fetal growth and perinatal viability in California. *Obstetrics and gynecology*. 1982;59(5):624-32. Epub 1982/05/01.

81. Victora CG, Barros FC, Horta BL, Martorell R. Short-term benefits of catch-up growth for small-for-gestational-age infants. *International Journal of Epidemiology*. 2001;30(6):1325-30.

82. Victora CG, Huttly SR, Fuchs SC, Olinto MT. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: a hierarchical approach. *International Journal of Epidemiology*. 1997;26(1):224-7.

83. Owen P, Burton K, Ogston S, Khan KS, Howie PW. Using unconditional and conditional standard deviation scores of fetal abdominal area measurements in the prediction of intrauterine growth restriction. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2000;16(5):439-44.



**Universidade Federal de Pelotas**

**Faculdade de Medicina**

**Departamento de Medicina-Social**

**Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia**



**COORTE DE NASCIMENTOS DE 1982 DE PELOTAS-RS:  
ACOMPANHAMENTO DOS 30 ANOS**

**Relatório do Trabalho de Campo**

**Pelotas - RS – Brasil**

**2013**

## 1. HISTÓRICO DA COORTE 82

Todas as crianças nascidas em 1982 na cidade de Pelotas, cujas mães residiam na zona urbana do município no momento do parto, foram elegíveis para um estudo longitudinal sobre saúde. Entre todas as crianças nascidas vivas, menos de 1% foram perdidas e em menos de 1% dos casos as mães se recusaram a participar do estudo. Ao longo de todos esses anos vários estudos foram conduzidos com os indivíduos deste grupo. No período de outubro de 2004 a agosto de 2005 todos os membros da coorte foram procurados para um novo acompanhamento. O esquema apresentado abaixo descreve os acompanhamentos realizados com a coorte de 1982.

ANO	ACOMPANHAMENTO
1982	Todas as crianças (estudo perinatal)
1983	1/3 da coorte (nascidos entre os meses de janeiro e abril)
1984	Todas as crianças
1986	Todas as crianças
1997	27% dos setores censitários da cidade
2000	Todos os homens
2001	Os mesmos de 1997
2004-2005	Todas as crianças
2012	Todas as crianças

## **2. ACOMPANHAMENTO DOS 30 ANOS**

Em 2012, quando os membros da coorte de 82 completariam 30 anos, realizou-se um novo acompanhamento, o qual incluiu todos os indivíduos da coorte. O projeto intitulou-se “Acompanhamento aos 30 anos de idade dos adultos jovens pertencentes à coorte de nascimentos de 1982: Influências precoces e contemporâneas sobre a composição corporal, capital humano, saúde mental e precursores de doenças crônicas complexas. Pelotas, RS” já recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina, da UFPel (Of.16/12)”.

Neste relatório serão descritas as etapas do estudo, incluindo atividades que antecederam o trabalho de campo, o campo e algumas atividades posteriores ao campo como banco de dados, análises e alguns resultados.

### **2.1 ATIVIDADES ANTERIORES AO TRABALHO DE CAMPO**

#### **2.1.1 Localização dos participantes**

Para localizar os participantes foram utilizadas algumas estratégias entre elas a atualização de endereços, que ocorreu através do envio de rastreadores (motoboys) aos endereços registrados no último acompanhamento, em 2004. Os participantes, quando localizados, eram informados sobre uma futura visita e recebiam um folder com informações sobre a pesquisa e alguns resultados. Além disso, também foi realizada a divulgação nos meios de comunicação local.

##### **2.1.1.1 Atualização de endereços e distribuição de folders**

No último acompanhamento em 2004, dados de identificação, como: número e nome do participante, nome da mãe e do pai, endereço e telefone

foram registrados para posterior contato. Com essas informações foi gerada uma lista com o nome, endereço e telefone do participante.

Primeiramente, realizaram-se ligações para estes telefones com o objetivo de obter informações atualizadas, porém essa estratégia não foi satisfatória. Então se decidiu enviar rastreadores aos endereços registrados no acompanhamento em 2004. Para essa tarefa foram selecionados quatro motoboys, eles deveriam ir ao endereço e obter informações atualizadas do participante.

Quatro meses antes do início do trabalho de campo os rastreadores começaram as buscas. Quando o participante era encontrado ele era informado sobre o novo acompanhamento e recebia um folder com informações sobre a pesquisa, alguns resultados dos acompanhamentos anteriores e contatos. Duas bolsistas ficaram responsáveis pelas estratégias de busca.

Com a lista atualizada dos endereços e telefones foi possível dar início aos agendamentos, que começaram uma semana antes do trabalho de campo.

#### **2.1.1.2 Divulgação nos meios de comunicação:**

Com o objetivo de divulgar o acompanhamento da coorte 82 e trazer mais participantes da corte a clínica no Centro de Pesquisas foram divulgadas matérias nas rádios e TVs locais.

#### **2.1.2 Organização e planejamento do acompanhamento da C82 aos 30 anos**

O trabalho de organização e planejamento do acompanhamento dos 30 anos da C82 iniciou em julho de 2011 e contava com a participação de pesquisadores e doutorandos do Programa de Pós Graduação em Epidemiologia. A equipe fazia reuniões semanais para discutir a cerca dos

instrumentos de coleta dos dados, as variáveis a serem coletadas e a logística do trabalho de campo.

### **2.1.3 Confeção de roupas especiais para os equipamentos**

Para a realização dos exames de composição corporal (Bod Pod e Photonic) foi necessária a confecção de roupas justas especiais. Como um dos equipamentos o Bod Pod exigia o uso de roupas e toucas justas e o outro o Photonic não aceitava o uso de roupas de cor preta, decidiu-se por confeccionar bermuda e blusa regata de elastano (tamanhos P, M, G e EXG) na cor cinza, além de touca de borracha tipo natação, um par de protetores de pés em TNT e um roupão descartável em TNT.

### **2.1.4 Recrutamento do pessoal**

No mês de maio e abril de 2012 ocorreu o recrutamento do pessoal. Os candidatos deveriam entregar o currículo no Centro de Pesquisas em Saúde, estes currículos foram analisados e selecionados pelas coordenadoras do estudo. Era exigido que o candidato fosse maior de 18 anos, tivesse ensino médio completo e disponibilidade de tempo. Aqueles que preencheram os critérios foram chamados para realizarem os treinamentos de alguns aparelhos, além do treinamento das entrevistas.

### **2.1.5 Treinamentos, padronização e seleção**

Os treinamentos ocorreram em abril e maio de 2012 e serviam para capacitar o pessoal.

Abaixo será descrito com detalhes cada um dos treinamentos.

#### **2.1.5.1 Treinamento do Questionário Geral**



O treinamento teórico-prático do questionário geral ocorreu entre os dias 23 e 29 de maio de 2012 nos turnos manhã e tarde, sob a responsabilidade dos pesquisadores e doutorandos envolvidos. O treinamento incluiu: (a) leitura de cada bloco do questionário geral e do manual de instruções; (b) aplicações simuladas entre as próprias candidatas. Participaram deste treinamento os 28 candidatos às seis vagas para entrevista (4), entretenimento (1) e recepção (1) e outras seis pessoas que já estavam selecionadas por terem trabalhado no acompanhamento da C93. Estas participaram com a finalidade de receberem um retreinamento.

Durante o treinamento eram realizadas dramatizações para que o grupo de pesquisadores, supervisora e doutorandos pudessem avaliar o desempenho de cada um. Era sempre ressaltada a importância de recorrer ao manual de instruções em casos de dúvidas. A seleção ocorreu simultaneamente ao treinamento, as candidatas eram avaliadas durante as dramatizações considerando a postura, entonação da voz e desenvoltura. Elas ainda foram submetidas a uma prova escrita sobre os conteúdos repassados durante o treinamento. Elas foram classificadas a partir da média calculada com base na nota da avaliação subjetiva e da prova. Foram consideradas aprovadas aquelas candidatas que obtiveram média igual ou superior a 6,0 e foram selecionadas para o trabalho seguindo a ordem de classificação até serem completas as vagas.

De um total de 28 candidatas nove foram aprovadas e seis selecionadas, ficando as demais na situação de suplência.

#### **2.1.5.2 Treinamento Antropometria (antropometria, MAP e dinamometria) e Pressão Arterial**

Para estas medidas havia duas vagas, uma já estava preenchida, dessa forma realizou-se um treinamento para selecionar a segunda medidora. O treinamento ocorreu no período de 20 a 24 de abril e 5 a 7 de maio, as candidatas à vaga foram submetidas a treinamento de coleta de medida antropométricas e aferição da pressão arterial. Além destas, uma terceira

participante (já selecionada), que já havia recebido treinamento para o acompanhamento da coorte de 93, participou também afim de retreinar suas aferições. Em um primeiro momento, as duas avaliadoras do equipamento BODPOD® também foram treinadas para realização da medida da altura em pé, medida que durante o trabalho de campo foi sistematicamente tomada na sala deste equipamento. As três participantes do treinamento da sala de antropometria passaram por nove turnos de padronização das seguintes medidas: altura sentada, circunferência da cintura, circunferência do quadril, perímetro braquial, pregas cutâneas (tricipital, subescapular e suprailíaca) e espessura do músculo adutor do polegar. Além de treinamento teórico/prático e padronização destas medidas, as participantes também foram treinadas para avaliação da medida de força muscular de preensão manual, avaliada por dinamômetro de pulso. O treinamento teve fim apenas após padronização de todas as participantes para todas as medidas, tendo como base os critérios para avaliação de precisão e exatidão desenvolvidos por Habicht. Após treinamento e padronização foi escolhida a candidata com melhores medidas.

Os responsáveis pelo treinamento, padronização e seleção das candidatas foram os doutorandos Gicele, Leonardo, Gabriela, Giovanni e Renata.

### **2.1.5.3 Treinamento dos Testes Psicológicos**

Para este trabalho foram selecionadas três psicólogas que já haviam trabalhado no acompanhamento da C93. Com a necessidade de selecionar mais três profissionais foi realizado um treinamento contando com a presença de quatro candidatas, além das três profissionais que já estavam selecionadas para que estas recebessem um retreinamento. O treinamento consistia na capacitação para aplicação de um questionário específico de saúde mental, para a aplicação dos testes psicológicos Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS - que avalia Quociente de Inteligência) e Mini International Neuropsychiatric Interview (M.I.N.I.). Das quatro candidatas somente uma atendeu aos requisitos para seleção. O treinamento ocorreu nos dias 1, 2 e 3

de junho de 2012 e era de responsabilidade dos doutorandos Lenice e Christian.

#### **2.1.5.4 Treinamento do questionário de frequência alimentar (QFA)**

A capacitação de pessoas para orientar os jovens sobre o procedimento com o QFA eletrônico, autoaplicado, foi realizada com duas candidatas que já haviam trabalhado no acompanhamento anterior. Elas receberam um retreinamento, sendo orientadas sobre como proceder com questionário em papel e no computador.

A responsável pelo retreinamento foi a doutoranda Janaina.

#### **2.1.5.5 Treinamento deutério**

Para essa função apenas uma pessoa foi treinada. O treinamento teórico/prático ocorreu no período de 19 a 26 de abril de 2012 e foi de responsabilidade da doutoranda Helen Castijo.

#### **2.1.5.6 Treinamento Photonic**

Ocorreu do dia 02 de maio nos turnos da manhã e tarde, onde cinco candidatas (selecionadas para o estudo, mas em processo de seleção para o equipamento) a duas vagas foram submetidas a um treinamento sob a responsabilidade do doutorando Leonardo.

#### **2.1.5.7 Treinamento Ultrassom Carótida**

Três candidatas (selecionadas para o estudo, mas em processo de seleção para o equipamento) a duas vagas foram submetidas ao treinamento

que ocorreu do dia 25 a 27 de abril nos turnos da manhã e tarde, sob as responsabilidades dos doutorandos Giovanny, Carolina e Rogério.

#### **2.1.5.8 Treinamento Ultrassom Abdominal**

Três candidatas (selecionadas para o estudo, mas em processo de seleção para o equipamento) a duas vagas, foram submetidas ao treinamento que ocorreu do dia 03 a 15 de maio nos turnos da manhã e tarde, sob a responsabilidade do doutorando Giovanny.

#### **2.1.5.9 Treinamento do VOP**

Este exame teve início quando o trabalho de campo já estava em andamento. Por isso, o treinamento ocorreu nos dias 20 e 21 de julho nos turnos manhã e tarde. Participaram do treinamento duas técnicas em radiologia que já trabalhavam no estudo realizando ultrassom de carótida e abdominal, dessa forma elas continuariam exercendo a função anterior e no turno inverso realizariam a medida do VOP. Após o treinamento uma delas comunicou que não poderia trabalhar nos dois turnos, sendo assim, uma nova pessoa, a técnica responsável pelo Photonic Scanner, foi treinada nos dias 31 de julho e 1 de agosto nos turnos manhã e tarde, para a função. A doutoranda Carolina foi a responsável por este treinamento.

#### **2.1.5.10 Treinamento do Bod pod**

Ocorreu no dia 3 de maio no turno da tarde. As duas candidatas que já haviam trabalhado no acompanhamento anterior receberam um retreinamento e foram selecionadas para a função. As responsáveis pelo treinamento foram as doutorandas Silvana e Gabriela.

#### **2.1.5.11 Treinamento do DXA**

Os avaliadores os quais anteriormente exerceram a mesma função no acompanhamento da coorte de 1993 foram submetidos a um retreinamento teórico/prático de forma a recapitular a tomadas das medidas e processos de calibração diária e semanal. Eles também foram instruídos à tomada de varredura de meio corpo, em substituição ao exame de corpo inteiro, que deveria ser aplicada aos participantes cujas larguras ultrapassassem a área de varredura de 60 cm. O retreinamento ocorreu no dia 02 de maio nos turnos da manhã e tarde, sob a responsabilidade da doutoranda Renata.

#### **2.1.5.12 Treinamento da Espirometria**

No dia 24 de abril nos turnos da manhã e tarde seis candidatas (selecionadas para o estudo, mas em processo de seleção para o equipamento) a duas vagas foram submetidas ao treinamento, sob as responsabilidades dos doutorandos Fernando e Fábio. Outros doutorandos também receberam treinamento, porém num outro dia, com o objetivo de conhecerem melhor a técnica.

#### **2.1.5.13 Treinamento da Coleta de sangue**

Para a coleta de sangue ficou a mesma equipe, de sete pessoas, que havia trabalhado no acompanhamento da C93, não sendo necessário treinamento.

#### **2.1.5.14 Treinamento para a Acelerometria**

A responsabilidade de preparar os acelerômetros que seriam entregues aos participantes da coorte 82 continuou sob a responsabilidade do rapaz que

havia trabalhado nos acompanhamentos das coortes de 2004 e 1993. Os motoboys responsáveis pela busca dos acelerômetros, assim como pela entrega dos aparelhos em caso de pendências, também consistiram nos mesmos que trabalharam anteriormente no acompanhamento da coorte de 1993 em 2011/12.

Quadro com as funções e vagas para as respectivas funções:

<b>FUNÇÃO</b>	<b>NÚMERO DE PESSOAS</b>
Recepção	4
Fluxo área dos questionários	2
Fluxo área dos equipamentos	2
Entrevistadoras	8
Psicólogas	6
Monitora do QFA	2
DXA	2
Bod Pod	2
Photonic	2
Ultrassom de carótida	2
Ultrassom abdominal	3
Espirometria	2
Coleta de sangue	2
Acelerometria	1 + 2 (motoboys)
VOP	2
Deutério	1

### **2.1.6 Estudo Piloto**

No dia 29 de maio de 2012 foi realizado o estudo piloto. Ele serviu para uma avaliação prévia de toda logística e funcionamento da clínica da coorte de 82, tendo como responsáveis os coordenadores, pesquisadores, supervisora de campo e doutorandos.

Os candidatos aprovados e selecionados para trabalharem no acompanhamento foram divididos em dois grupos para que em um momento servissem de “participantes da coorte” para as entrevistas e exames corporais e, posteriormente, fossem os responsáveis pela coleta de dados. Essa estratégia permitiu estabelecer o fluxo a ser (adotado desde a chegada da pessoa à clínica), leitura do TCLE, realização dos exames nos equipamentos e dos questionários e, principalmente, ajudou a estimar o tempo gasto para realização de todas as medidas.

## **2.2 TRABALHO DE CAMPO**

O trabalho de campo teve início no dia quatro de junho de 2012, no turno da manhã as 8:00 horas, na clínica situada nas dependências do prédio B do Centro de Pesquisas em Saúde Amílcar Gigante. O atendimento era realizado das 8:00 às 14:00 (turno da manhã) e das 14:00 às 20:00 (turno da tarde).

### **2.2.1 Logística da Coorte 82 na Clínica do Centro de Pesquisas**

Os participantes eram contatados por telefones e convidados a comparecerem no centro de pesquisas com dia e hora marcada. Havia uma pessoa responsável por fazer estes agendamentos.

Inicialmente eram agendados 16 participantes por dia, oito em cada turno de trabalho. Esse número foi sendo testado e foi aumentando gradativamente até chegar a 15 agendamentos por turno de trabalho.

Ao chegar na clínica, a pessoa era atendida na recepção, um ambiente estruturado para essa finalidade. Neste momento, era solicitado um documento para certificação de que se tratava de um participante da coorte de 82. Fazia-se então, a checagem do nome com a planilha de agendamentos. Caso a pessoa não portasse documento perguntava-se o nome completo da mãe e esse era conferido em um banco de dados disponível num dos computadores da recepção. Após a conferência dos dados a pessoa recebia um crachá de identificação que continha o nome e um código de barras com o ID do participante, este crachá deveria ser usado durante todo o tempo de permanência no local. Além de identificar o jovem, o crachá mostrava todos os locais pelos quais o indivíduo deveria passar, garantindo desta forma que todos os questionários fossem respondidos e exames realizados. Após a entrega do crachá, a recepcionista entrava em contato com a responsável pelo fluxo dos questionários, para a mesma disponibilizar uma entrevistadora. Dessa forma a pessoa era encaminhada para a entrevistadora juntamente com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – existiam dois tipos de TCLE: do subestudo do deutério e do restante da amostra.



A entrevistadora fazia a leitura do TCLE para a pessoa estar ciente dos procedimentos. Ao final, no caso de participante do sexo feminino, era perguntado sobre gravidez, na confirmação ou suspeita de gravidez a participante não deveria fazer alguns exames. Até a metade do acompanhamento as gestantes só deveriam fazer as entrevistas, no entanto, esta regra foi alterada, foi decidido pela coordenação que as gestantes fariam além das entrevistas, a medida de ultrassom de carótida, medida de altura, medida de altura sentada e de pressão arterial. No final do TCLE constava uma lista com os procedimentos que seriam realizados ao lado havia um espaço para que o participante marcasse um “X” naqueles itens que estivesse de acordo em fazer. Se a pessoa se recusasse ou relatasse possuir algum impedimento para a realização (critério de exclusão para determinado exame), o doutorando de plantão era chamado para tentar reverter a recusa ou caso contrário assinalar tal ocorrido no crachá. Os seguintes códigos eram utilizados pelos doutorandos:

R = recusa

G = grávida

PG = possível gravidez

CE = critério de exclusão

A = no caso da gestante realizar a altura.

A clínica foi dividida em duas partes, uma para a realização de exames e outra para a aplicação dos questionários. Cada parte era controlada por uma pessoa que portava uma planilha para controle do fluxo dos questionário e dos equipamentos. Dessa forma, após assinatura do TCLE, o indivíduo era conduzido para uma das responsáveis pelo fluxo, esta o encaminhava para as entrevistas ou para os equipamentos conforme disponibilidade.

Nas entrevistas eram aplicados os instrumentos: questionário geral, questionário confidencial, QFA, M.I.N.I. e QI - WAIS. Na parte dos equipamentos eram realizados os seguintes exames: pletismografia (BodPod), densitometria (DXA), avaliação das dimensões corporais (photonics scanner),

espirometria, ultrassom de carótidas, ultrassom abdominal coleta de sangue, antropometria (pregas cutâneas subescapular, tricipital; circunferência da cintura; perímetro braquial; altura e altura sentado), dinamometria, velocidade da onda de pulso (VOP) e pressão arterial. A ordem com que os participantes realizavam as etapas (questionários ou equipamentos) era controlada pelas responsáveis pelo fluxo na clínica.

Para as entrevistas eram destinadas sete salas, sendo quatro para os questionários geral e confidencial e três para saúde mental. Havia ainda uma sétima sala destinada ao questionário de frequência alimentar (QFA). O QFA era autoaplicado no computador e supervisionado por uma monitora. Não havia ordem para a realização das entrevistas.

Para a realização dos exames o participante era conduzido pela responsável pelo entretenimento (recreacionista) até um vestiário para trocar sua roupa por aquela apropriada para os exames. Além da roupa era necessário a retirada de qualquer objeto de metal. Todos os pertences dos participantes eram guardados em armários com chaveados, a chave ficava na posse do participante durante todo o seu percurso na clínica.

Dentro de cada sala dos equipamentos havia uma ficha para anotações, denominada “Diário de campo”. Nesta ficha eram anotadas as intercorrências que seriam posteriormente de interesse dos responsáveis e do estudo. Exemplos: na sala do Photonic havia registros no diário de campo sobre discrepâncias na medida da circunferência da cintura além do que era considerado relevante. Na antropometria os registros eram feitos caso a coleta de medidas fosse realizada no braço contrário ao protocolo. No DXA a ocorrência mais comum era em relação a existência de piercing em alguma parte do corpo e não poder realizar a medida no corpo inteiro, ou então o adolescente ser obeso ou muito alto de forma que seu corpo ultrapassava os limites da cama do aparelho. Na sala de coleta de sangue havia uma em planilha Excel, para anotação dos coletadores, sobre os casos de desmaio, acesso venoso ruim, pouca amostra sanguínea, etc. Na sala do ultrassom havia uma ficha técnica própria que a responsável pela coleta tinha que

preencher para todos os exames realizados. O tempo médio que os participantes permaneciam na clínica foi de 3h e 30 min.

Antes de deixar a clínica o jovem recebia uma ajuda de custo pela sua participação (R\$50,00) e assinava um recibo do valor. Em algumas situações o jovem solicitava um atestado para comprovar falta na escola, trabalho, cursinho, o qual era prontamente fornecido etc. Esse documento ficava a disposição na recepção e era assinado pela supervisora de campo.

## **2.2.2 Informações sobre os exames realizados:**

### **2.2.2.1 Bod Pod**

Este aparelho servia para medir a composição corporal. Nesta sala antes do exame eram obtidas as medidas de altura e de peso do participante e, ambos, anotados no crachá para que os esses dados fossem utilizados em outros equipamentos, como o DXA e a espirometria. Para a medida da composição corporal era necessário que o participante permanecesse dentro do aparelho, uma câmara fechada, por alguns segundos sem se mexer. Era obrigatório o uso de uma touca de natação.

### **2.2.2.2 DXA**

Este aparelho é utilizado para obter medidas de composição corporal. Para este exame o indivíduo deitava numa cama anexa ao aparelho e era realizado um scanner do seu corpo (fêmur, coluna e corpo inteiro). No caso de participantes cujas larguras excedessem a área de varredura de 60cm, foram realizadas varreduras de meio corpo, de forma que as estimativas do corpo inteiro foram realizadas duplicando-se os valores obtidos pela medição do lado direito do corpo. Neste aparelho o uso de objetos de metal interfere no resultado da medida. Dessa forma, o participante era orientado para, se estivesse portando, retirar os objetos de metal, se possível.

Critério de exclusão: Não realizaram a varredura de corpo inteiro os indivíduos cuja altura excedesse 1,92cm, ou que ao momento do exame de corpo inteiro em duas varreduras consecutivas os pés foram cortados devido à altura. Estes participantes realizaram apenas os exames de coluna lombar e fêmur duplo. Não realizaram todos os exames os participantes cujo peso ultrapassasse 120kg, devido à indicação do fabricante, e também indivíduos cadeirantes.

Além dos critérios acima, a presença de anormalidades que comprometessem a qualidade do exame (como cirurgias no fêmur, presença de gesso), bem como adornos ou peças cirúrgicas de metal não removíveis foi avaliada pela doutoranda responsável (Renata) e uma voluntária oriunda do curso de graduação em Nutrição. Nestas avaliações, foram detectadas as presenças de balas, pinos e placas de metal, além de intervenções cirúrgicas que comprometessem as estimativas, como no caso de tratamento para fratura na região da epífise femoral. Também foi detectada a presença de adornos que não puderam ser retirados por alguma razão como pulseiras e piercings. Uma planilha feita no programa Excel foi criada contendo o número do participante, dígito verificador, exames comprometidos (CI, CL ou CF direito e CF esquerdo), observações pelo motivo de comprometimento do exame, o nome do avaliador responsável pela medida e a semana do trabalho de campo de realização do exame.

Esta planilha foi incorporada ao banco de dados do DXA, de forma a possibilitar as exclusões dos exames comprometidos.

### **2.2.2.3 Photonic Scanner**

Este aparelho fornece uma imagem 3D com as medidas de circunferência corporal. Para realizar o exame pessoa entrava numa câmara escura, e deveria permanecer na posição indicada sem se mexer por alguns instantes. Neste aparelho o uso de qualquer tecido no corpo que não fosse a roupa fornecida pela pesquisa, gesso ou tatuagens grandes e escuras, atrapalhava a formação da imagem 3D e das medidas de circunferência.

#### **2.2.2.4 Ultrassom de carótida**

Através do ultrassom se faz uma varredura das carótidas. O exame é realizado com a pessoa deitada em uma maca com a cabeça posicionada para o lado para ser possível o acesso às artérias. A medida era realizada nos dois lados: esquerdo e direito.

#### **2.2.2.5 Ultrassom Abdominal**

Este exame mede a gordura abdominal subcutânea. O procedimento era realizado com a pessoa deitada em uma maca com o abdômen voltado para cima. A medida era realizada na altura do abdômen.

#### **2.2.2.6 Antropometria**

Nesta sala eram aferidas algumas medidas corporais (altura, pressão arterial, circunferência braquial e da circunferência da cintura, pregas cutâneas tricóptica e subescapular e dinamometria).

Todas as medidas eram coletadas duas vezes e quando apresentava diferença entre a medida um e dois acima do erro aceitável, a terceira medida deveria ser realizada. O erro aceitável para cada medida era: 0,7 cm altura sentada; 2 mm prega cutânea tricóptica e subescapular e 1 cm cintura. Eram obtidas duas medidas de pressão arterial uma no início da antropometria e outra no final.

A dinamometria era realizada por três vezes em cada braço alternadamente. A medida se era obtida pelo aperto da mão no aparelho denominado “dinamômetro”. Para realizar a medida o participante deveria tirar todos os adornos na região do braço, pulso e mão. Ele ainda deveria estar sentado com o braço junto ao corpo dobrado, apoiado sobre o braço de uma

cadeira, formando um ângulo de 90°, com pulso em posição neutra, para então receber o aparelho.

Critério de exclusão: Participantes com amputação de um dos braços, participantes com gesso ou tipoia, participantes com dor em um dos braços auto relatada que geraria desconforto no momento de realização dos exames.

### **2.2.2.7 Deutério**

Com o objetivo de avaliar a água corporal total, uma subamostra de 200 pessoas foi necessária para compor o subestudo do Deutério. Ao fazer o agendamento deste participante lhe era perguntado o seu peso para que este fosse utilizado na preparação da dose, a qual consistia em 2 ml de água por Kg de peso e 0,05 ml de deutério por kg de peso. Uma ficha era preenchida com informações de antropometria do adolescente, horário de administração do deutério e horário e endereço da segunda coleta.

Quando a pessoa chegava à sala do deutério, era realizada a primeira coleta de saliva e, logo em seguida, era administrado o deutério. Posteriormente, de acordo com as medidas antropométricas coletadas na clínica, era calculado o IMC do indivíduo e se o índice fosse  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup> a segunda coleta de saliva deveria ser realizada 5 horas após a primeira coleta. Se o IMC fosse menor que 30 Kg/m<sup>2</sup> a segunda coleta deveria ser realizada 4 horas após a primeira. Era solicitado que o participante não ingerisse nenhum tipo de líquido ou alimento durante 30 minutos antes das duas coletas.

A segunda coleta era obtida no domicílio do participante, para isso uma pessoa responsável por essa função se deslocava até a residência do participante.

Nos casos em que a segunda coleta não pudesse ser realizada por algum motivo ou que a quantidade de saliva coletada fosse insuficiente, era feito contato e agendada outra data para serem realizadas as coletas em seu domicílio.

### **2.2.2.8 Espirometria**

Este exame servia para medir a capacidade pulmonar. A espirometria era realizada em duas etapas, antes e após o uso do broncodilatador (salbutamol 400 mcg). Era necessário um intervalo de 15 minutos entre a primeira e a segunda sequência de sopros. Para este exame a pessoa deveria estar sentada e, de acordo com a orientação da técnica responsável, soprar no espirometro.

### **2.2.2.9 Coleta de sangue**

A coleta era feita através de sistema fechado (a vácuo) e com o indivíduo deitado em uma maca. Eram coletados cinco tubos totalizando 20 mL de sangue. A ordem de coleta era: 1 – Tubo com gel e ativador de coágulo: 5 mL; 2 – Tubo com citrato de sódio: 2 mL; 3 – Tubo com EDTA: 4 mL; 4 – Tubo com gel e ativador de coágulo: 5 mL; e – Tubo com EDTA: 4 mL. O sangue coletado era levado para o laboratório de processamento no andar acima da clínica do CPE.

### **2.2.2.10 VOP**

A velocidade da onda de pulso (VOP) é uma medida direta da rigidez das artérias carótida e femoral e é realizado através de um aparelho de ultrassom portátil. Dessa forma a pessoa, deitada em uma maca, deve ficar na posição que proporcione melhor acesso as artérias. O exame é rápido e indolor.

### **2.2.2.11 Acelerometria**

A rotina diária da acelerometria funcionava da seguinte forma: diariamente a planilha de agendamentos referente a cada turno era enviada para o responsável pela acelerometria. Com o ID e iniciais do nome do participante o aparelho era configurado em um software e depois de ativado para uso, era levado para recepção a fim de ser colocado no pulso de cada participante. O aparelho era colocado lado do braço não dominante e com os pinos voltados para os dedos. O indivíduo recebia orientação sobre a utilização durante as 24 horas do dia, inclusive no banho, para dormir e em qualquer outra atividade, juntamente com o aparelho, era entregue um manual de instruções básico e rápido onde constavam os telefones de contato em caso de dúvidas quanto à utilização do monitor. Após a colocação do aparelho, explicar o uso e entregar as instruções, a recepcionista registrava em planilha específica a data, a hora, o número de identificação do acelerômetro, um telefone para contato e o local para coleta do monitor. Depois deste processo, o responsável pela acelerometria preparava uma planilha de coleta que era entregue aos coletores (motoboys) para a busca dos aparelhos no local e horário marcado previamente. Esta planilha era entregue aos coletores um dia antes das coletas. Era orientado que o acelerômetro fosse retirado do pulso pelo coletor sempre que possível. Após a coleta e chegada do acelerômetro na Clínica do CPE, eram iniciados os procedimentos de download dos arquivos com os registros contidos nos monitores. Posteriormente ao download o acelerômetro era colocado para carregar sua bateria e ao atingir o mínimo de 85% de carga era disponibilizado para uso novamente. Em casos de observação de perda de informações devido à prejuízos nos aparelhos, os motoboys levavam para a casa dos respectivos participantes um novo aparelho para que a medida fosse tomada sem comprometimento. O acelerômetro cujas falhas fossem detectadas foram retirados imediatamente do trabalho de campo.

Critério de exclusão: Não colocaram acelerômetros indivíduos moradores de fora das cidades de Pelotas e Capão do Leão ou cujas atividades laborais pudessem causar dano evidente ao aparelho (ex: oficinas mecânicas) ou que os mesmos devessem ser removidos na execução das atividades (ex: fabricação de alimentos). Exceções ocorreram com indivíduos moradores de fora de Pelotas e Capão de Leão que passariam a semana em



alguma dessas cidades ou que retornariam por algum motivo a elas na semana subjacente à entrega do aparelho na clínica utiliza.

## **2.3 INSTRUMENTOS DE PESQUISA**

### **2.3.1 Questionário geral**

O questionário geral do acompanhamento dos 30 anos era constituído de 587 questões e dividido em 21 blocos que abordavam diversos temas.

BLOCO A – Família e Moradia

BLOCO B - Consultas

BLOCO C – Hospitalização

BLOCO D – Medicamentos

BLOCO E – Saúde da Mulher

BLOCO F – Doença Respiratória

BLOCO G – Fraturas

BLOCO H – Acidentes e violência

BLOCO I – Atividade Física

BLOCO J – Eventos Estressores

BLOCO K – Composição Familiar

BLOCO L – Morbidade dos Pais

BLOCO M - Casamento

BLOCO N - Fumo

BLOCO O – Imagem Corporal

BLOCO P – Segunda Geração

BLOCO Q – Escolaridade

BLOCO R - Trabalho

BLOCO S – Escala Social e Renda

BLOCO T – Alimentação e Álcool

BLOCO U – Saúde Mental

### **2.3.2 Testes Psicológicos**

O questionário denominado M.I.N.I. composto por 75 questões e o WAIS-III (que mede o QI) eram aplicados por psicólogas.

### **2.3.3 QFA**

O QFA composto por 88 itens alimentares foi desenvolvido com base nos questionários alimentares de outros acompanhamentos sendo em versão eletrônica e autoaplicado. O questionário, diferentemente dos outros acompanhamentos era semiquantitativo, ou seja, continha as porções de consumo padronizadas e a frequência de consumo fechada/categorizada. Foram inseridas fotos com as porções médias de cada alimento com o objetivo de tornar o layout do questionário mais atraente.

### **2.3.4 Questionários confidenciais**

Os questionários confidenciais eram preenchidos pelos participantes imediatamente após o término do questionário geral. A versão para os homens era composta de 56 questões e a versão para as mulheres continha 57, sendo esta última referente a ter ou não prótese de silicone.

## **2.4 MANUAIS DE INSTRUÇÕES**

Os manuais de instruções do estudo serviam como guia e apoio para os entrevistadores e responsáveis dos equipamentos. Eles eram sempre utilizados nos casos de dúvidas, tanto no registro de informações no computador, quanto para esclarecer sobre os critérios de exclusão de exames, erros dos equipamentos, etc. Exemplares dos mesmos ficavam em cada sala de entrevista.

### **2.4.1 Modificações nas instruções durante o campo**

Durante o trabalho de campo foram realizadas alterações e acréscimos ao manual, devido a situações não previstas durante o campo. Foi elaborada uma errata e anexada ao manual de instruções.

## **2.5 RECURSOS MATERIAIS E INFRAESTRUTURA**

### **2.5.1 Infraestrutura**

A clínica funcionou nas dependências do prédio anexo ao Centro de Pesquisas Epidemiológicas Amilcar Gigante.

### **2.5.2 Mobília**

#### **2.5.2.1 Sala (QG) da coorte de 1982**

Disponha de dois arquivos de metal, uma mesa redonda, três mesas de escritório, oito cadeiras, quatro computadores, uma impressora, dois armários de madeira com chave, um armário de metal com chave, duas lixeiras, dois quadros com ímã e nove estantes-prateleiras de metal.

#### **2.5.2.2 Clínica do CPE**

Sala de espera

Recepção

Sala da equipe

Sala do TCLE.

Sala de entrevista

Sala QFA

Entretenimento

Sala da Acelerometria

Sala da Antropometria

Sala do Bod Pod

Sala do DXA

Sala da Espirometria

Sala do Photonic

Sala do Ultrassom de carótidas

Sala do Ultrassom abdominal

### **2.5.2.3 Laboratório**

Dispunha de 2 mesas de escritório, 2 computadores, 3 bancadas de granito, 1 pia de granito, 3 estantes de ferro (1 na Sala dos Freezers), 4 armários de madeira, 1 balcão aéreo, 3 cadeiras estofadas com rodinhas, 7 cadeiras estofadas sem rodinhas, 2 telefones, 3 banhos Maria, 1 vórtex, 1 medidor de pH de bancada, 1 balança analítica, 1 agitador magnético, 2 centrífugas para 12 tubos de 15 mL (1 do laboratório e 1 do deutério), 1

centrifuga refrigerada para 28 tubos de 15 mL, 1 centrifuga refrigerada para 8 tubos de 15 mL, 1 centrifuga refrigerada para 12 tubos de 15 mL e 1 geladeira.

### **Sala dos freezers**

Sala anexada ao laboratório contava com 4 freezers verticais -80 °C, 3 freezers, horizontais -20 °C, 2 freezers horizontais -40 °C, 1 freezer horizontal 4 °C e 2 freezer vertical -20 °C.

### **Sala de limpeza (DML)**

Continha 1 estufa para esterilização e secagem, 2 autoclaves, 1 destilador de água, 1 máquina de gelo, 1 purificador de água, 1 barrilete para estocagem de água e 1 armário de madeira.

## **2.5.3 Informações sobre os equipamentos**

### **Bod Pod**

O Bod Pod® Gold Standard – Body Composition Tracking System – é um pletismógrafo que calcula o volume corporal dos indivíduos através do deslocamento de ar.

### **Photonic Scanner**

O Photonic Scanner TC2® captura imagens 3D altamente precisas da superfície corporal em até 10 segundos.

### **DXA**

Densitômetro Ósseo com Raio-X baseado em enCORE (modelo Lunar Prodigy – marca GE Healthcare®) que avalia a composição corporal através da atenuação de raios X pelos diferentes tecidos do corpo.

### **Ultrassom**

O aparelho de ultrassom do modelo Xario é um sistema para diagnóstico digital, “Premium Compact”, fabricado pela Toshiba.

## **Espirômetros**

Espirômetro nd Easyone, espaçador 600 ml, broncodilatador spray (salbutamol 400 mcg spray) e bocal descartável para a avaliação da capacidade pulmonar.

## **Acelerômetros**

O monitor de atividade física utilizado foi o GENEActiv® (Gravity Estimator of Normal Everyday Activity) o qual coleta a aceleração na forma tri axial (eixos x, y e z), com posicionamento de uso no punho e à prova de água.

## **Antropometria**

Estadiômetro desmontável (alumínio e madeira) precisão 0,1 cm, banco de madeira com 75 cm de altura para a aferição da altura sentada, fita métrica inextensível com precisão de 0,1 cm, plicômetro CESCORF científico com precisão de 0,1 mm e dinamômetro digital da marca JAMAR PLUS.

## **Pressão arterial**

Aparelho de pressão arterial automático, modelo HEM-705CPINT com manguitos de braço da marca Omron. Um manguito para pessoas de peso normal e outro para obesos.

## **VOP**

O exame da velocidade da onda de pulso (VOP) é realizado através de um aparelho de ultrassom portátil da marca Sphyngmocer.

## Modificações do projeto

Foram realizadas algumas modificações da versão final do projeto de pesquisa para os artigos produzidos, tendo em vista as discussões na disciplina orientação de tese e no amadurecimento das ideias durante o doutoramento e a confecção dos artigos. Estas modificações seguem abaixo:

Artigo 1 – “Revisão Sistemática e Meta-Análise sobre a associação entre Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo e Amamentação” – Artigo de Revisão.

Modificações Artigo 1 – Foi realizado conforme planejado.

Artigo 2 – “Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo aos 30 anos, condições de nascimento, crescimento acelerado na infância e amamentação na coorte de 1982 em Pelotas”.

Modificações Artigo 2 – o artigo foi publicado na revista *Plos One*, indexada com fator de impacto A1 para área de epidemiologia, com o título: “Carotid Intima-Media Thickness at Age 30, Birth Weight, Accelerated Growth during Infancy and Breastfeeding: A Birth Cohort Study in Southern Brazil”.

No projeto estava planejado avaliar a posição socioeconômica ao nascimento como variável independente, inclusive estava previsto nas hipóteses do projeto, mas essa variável acabou entrando na análise somente como fator de confusão, o mesmo ocorreu com tabagismo materno na gestação.

Foi acrescentado ao artigo a análise de indicadores de saúde infantil na infância em escore-z peso/idade, altura/idade, peso/altura aos 2 anos e aos 4 anos.

Na análise de dados estava previsto avaliar mediação, mas optou-se por realizar apenas controle para variáveis de confusão, sem avaliar mediação. Nas análises além do ajuste para variáveis demográficas (sexo e cor da pele) e socioeconômicas (escolaridade dos pais, nível econômico dos pais), que estavam previstas, foram adicionadas as variáveis de confusão idade materna

ao nascimento e cor da pele materna. Uma das ideias iniciais era avaliar as crianças com baixo peso e restrição de crescimento intra-uterino e que fizessem catch up, mas optou-se por avaliar ganho de peso condicional dos 0 aos 2 anos e dos 2 aos 4 anos. Não foram utilizadas as análises com G-fórmula e nem modelos de equações estruturais sugeridos no projeto, mas foram considerados desnecessários.

Artigo 3 – Espessura do Complexo Médio-Intimal Carotídeo e fatores de risco cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas.

Modificações Artigo 3:

Optou-se por não avaliar obesidade abdominal, devido ao grande número de variáveis.

Optou-se por não apresentar o ajuste (adicional) para escolaridade atual, nível econômico atual e classe social.

Assim, as alterações realizadas após a defesa do projeto ocorreram de forma a enriquecer os artigos à medida que eles foram sendo redigidos e revisados. Considera-se que a proposta inicial da tese não foi prejudicada e os objetivos principais foram mantidos e aprimorados.



Artigo original 1 – “Amamentação e espessura do complexo médio-intimal carotídeo: revisão sistemática e meta-análise”.

Artigo a ser submetido à revista “Cadernos de Saúde Pública” ISSN 0102-311X após a defesa da tese.

## **TÍTULO**

Amamentação e espessura do complexo médio-intimal carotídeo: revisão sistemática e meta-análise

## **RESUMO**

**OBJETIVO:** Realizar revisão sistemática e meta-análise das evidências do efeito da amamentação sobre a espessura do complexo médio-intimal carotídeo (ECMIC).

**MÉTODOS:** Foram pesquisadas as bases Pubmed, Web of Science, LILACS/BIREME e EMBASE, até janeiro de 2015, usando os descritores: “breastfeeding”, “breast feeding”, “lactation”, “human milk”, “infant feeding”, “carotid intima-media thickness”, “intima-media thickness”, “IMT”.

**RESULTADOS:** Foram identificados 5 estudos que forneceram 6 estimativas sobre a associação entre amamentação e ECMIC. Todos os estudos relataram que os indivíduos que foram amamentados apresentavam menor ECMIC, mas os intervalos de confiança de 95% (IC 95%) incluíram a referência (zero). A heterogeneidade entre os estudos foi baixa ( $I^2=24,1\%$ ) e a estimativa combinada, usando modelo fixo, foi de  $-1,52 \mu\text{m}$  (IC 95%:  $-3,76; 0,71$ ), sugerindo que a amamentação estaria associada a menor espessura do complexo médio intimal, mas como o intervalo de confiança englobou a referência. O efeito benéfico da amamentação foi maior entre os estudos que compararam indivíduos que foram amamentados com os que nunca amamentaram [diferença média:  $-18,61 \mu\text{m}$  (IC 95%:  $-33,78; -3,44$ )].

**CONCLUSÕES:** Observamos um pequeno benefício da amamentação, mas devido ao pequeno número de estudos, não é possível descartar que esta associação tenha sido ao acaso. **DESCRITORES:** Amamentação. Espessura do complexo médio-intimal carotídeo. Meta-análise.

## INTRODUÇÃO

O aleitamento materno apresenta benefícios de curto prazo, em particular na redução da morbidade e mortalidade por doenças infecciosas na infância.<sup>1</sup> No que diz respeito aos determinantes precoces das DCV, que são a principal causa de óbito no mundo,<sup>2</sup> evidências sugerem que a amamentação pode ter efeito benéfico em longo prazo sobre os fatores de risco cardiovasculares.<sup>3-6</sup>

A aterosclerose se caracteriza pelo espessamento gradual da camada íntima devido ao depósito de material gorduroso e de colesterol que ocorre nas artérias de médio e grande porte, estudos sugerem que a aterosclerose se inicia na infância.<sup>7-9</sup>

A medida da espessura do complexo médio-intimal carotídeo (ECMIC) é um dos marcadores do processo de aterosclerose que têm sido utilizados nos estudos epidemiológicos, pois permite monitorar alterações da espessura da parede arterial, bem como sua associação com fatores de risco cardiovasculares.<sup>10-13</sup>

A plausibilidade biológica da associação entre amamentação e ECMIC estaria na associação inversa entre amamentação e concentração de colesterol na idade adulta.<sup>14</sup> Além disso, a amamentação está relacionada a menor risco de obesidade, diabetes e pressão arterial na vida adulta.<sup>5</sup> Assim, esse efeito da amamentação sobre os fatores de risco cardiovasculares diminui o risco de aterosclerose através da redução da ECMIC. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo revisar as evidências na literatura a respeito da associação da amamentação com a ECMIC.

## MÉTODOS

As bases de dados Pubmed, Web of Science, LILACS/BIREME e EMBASE foram pesquisadas, em paralelo pelos dois autores, em busca de artigos que avaliaram a associação entre a amamentação e a espessura do complexo médio-intimal carotídeo. A busca nas bases de dados cobriu os artigos publicados até Janeiro de 2015. Foram combinados os descritores do Medical Subject Headings (MeSH) para a exposição (amamentação): “breastfeeding” ou “breast feeding” ou “lactation” ou “human milk” ou “infant feeding” com cada um dos termos referentes a espessura do complexo médio-intimal carotídeo: “carotid intima-media thickness”; “intima-media thickness”; “IMT”. Não houve restrição ao idioma de publicação do artigo.

Ao final da busca eletrônica, foram eliminados os estudos em duplicata e a seguir foram lidos os títulos e resumos, sendo excluídos aqueles estudos que claramente não avaliavam a relação entre amamentação e ECMIC. A seguir foram lidos na íntegra os estudos selecionados na etapa anterior e excluídos da revisão os estudos que avaliaram a ECMIC apenas nas mães e os que não apresentaram dados da relação entre amamentação e ECMIC nos filhos. Todo o processo de seleção dos artigos foi realizado por dois avaliadores, e as seleções comparadas e qualquer divergência foi resolvida por consenso.

Ao final do processo de seleção dos estudos, foi realizada busca nas referências dos artigos incluídos na revisão, visando identificar eventuais estudos que não tivessem sido identificados. Além disso, foram buscados artigos que citaram os estudos selecionados utilizando a base Scientific Citation Index, com o objetivo de identificar artigos que não tinham sido identificados na busca bibliográfica.

Foram considerados elegíveis os artigos que relataram a associação entre ECMIC e amamentação desde que tivesse algum grupo de comparação. Quando o tempo de amamentação era categorizado optava-se por comparar a maior categoria de tempo de aleitamento com a menor. A revisão dos artigos foi realizada pelos autores. A extração dos dados foi realizada de acordo com uma ficha estruturada contendo: nome do autor, ano de publicação, desenho do estudo, país de origem, idade média, número de indivíduos, gênero, metodologia da coleta da ECMIC, metodologia da amamentação, e resultado.

Na análise dos dados foi utilizado o pacote estatístico Stata versão 13.0. A medida de efeito utilizada foi à diferença de média da ECMIC do grupo que amamentou

por mais tempo comparado com aquele que não amamentou (ou amamentou por menos tempo), de acordo com a categorização de amamentação de cada estudo, e seu intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Assim, uma diferença média negativa denota uma ECMIC menor entre o grupo que amamentou por mais tempo. Foi avaliada a heterogeneidade entre os estudos através do Teste Q e I-quadrado. Se uma das medidas deu um resultado positivo, se usou o modelo randômico para obter a medida agrupada, do contrário se usou modelo fixo. Devido ao pequeno número de estudos incluídos não se produziu o gráfico de funil.

## RESULTADOS

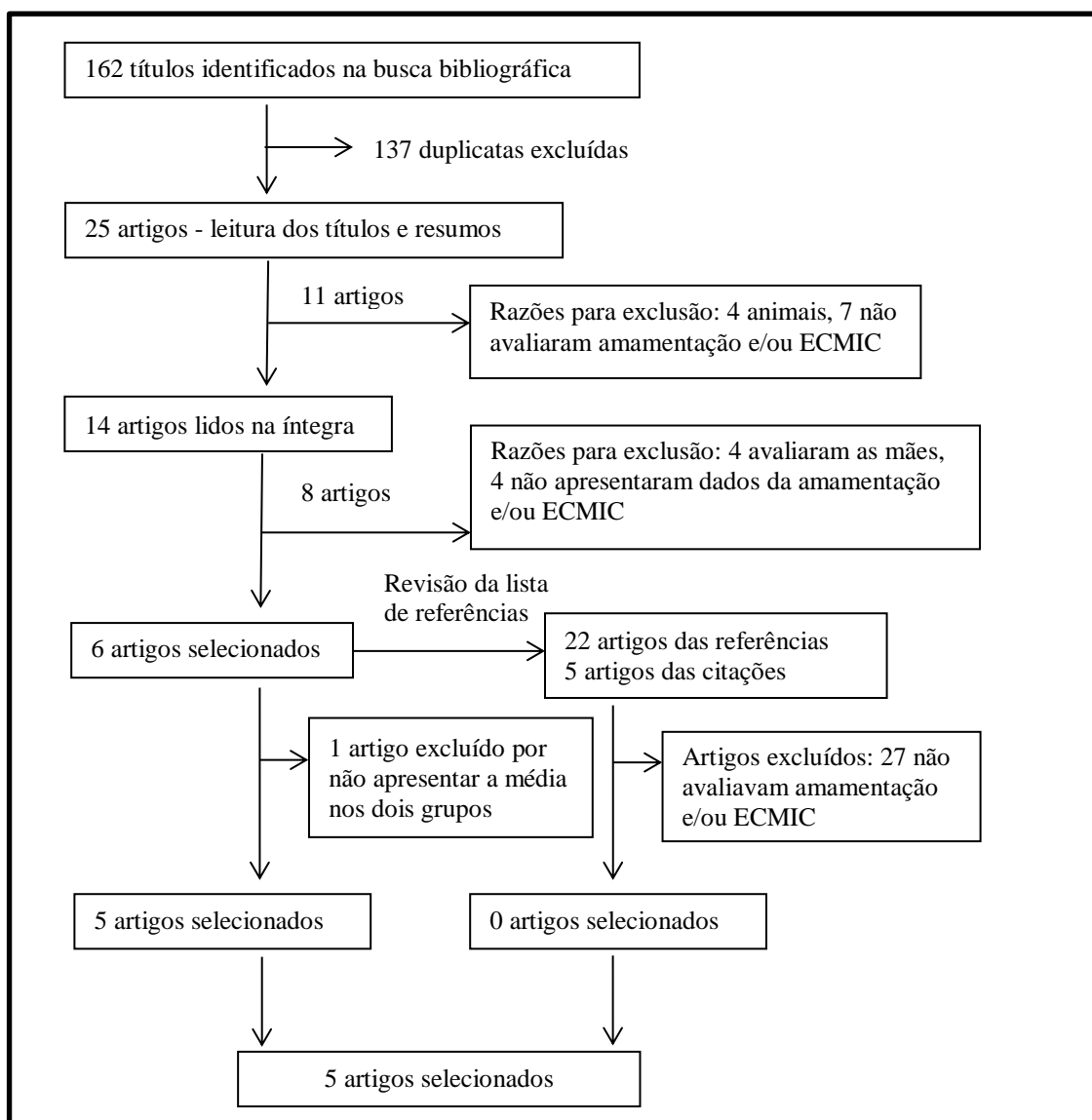


Figura 1. Fluxograma de seleção dos artigos que avaliaram a associação entre amamentação e espessura do complexo médio-intimal carotídeo.

A Figura 1 descreve o fluxograma de seleção dos artigos. Inicialmente, foram identificados 162 artigos na busca nas bases de dados Pubmed, Web of Science, LILACS/BIREME e EMBASE. Foram excluídos 137 duplicatas e o título e o resumo de 25 artigos foram lidos. Ao final desta etapa foram selecionados 14 artigos que foram lidos na íntegra, foram excluídos quatro artigos por avaliarem a ECMIC apenas nas mães que amamentaram, outros quatro estudos foram excluídos por não apresentarem dados da relação entre amamentação e ECMIC nos filhos. Portanto, foram selecionados seis artigos para inclusão na presente revisão.<sup>15-20</sup> Adicionalmente, foram identificados 22 artigos que citaram os estudos incluídos na revisão e que não tinham sido

identificados na busca bibliográfica, além disso, na revisão das referências dos artigos incluídos foram identificados mais cinco estudos, mas nenhum destes 27 estudos foi incluído na revisão. Finalmente, um artigo foi excluído por apresentar apenas o efeito da duração da amamentação em meses sobre a ECMIC, não sendo possível comparar um grupo de mais tempo de amamentação contra outro de menor amamentação.<sup>19</sup> Na revisão, foram incluídos 5 estudos que forneceram 6 estimativas sobre a associação entre amamentação e ECMIC.

A Tabela 1 mostra que todos artigos incluídos foram publicados nos últimos dez anos, têm delineamento longitudinal, quatro foram realizados em países de alta renda (Inglaterra, Finlândia, Holanda e Austrália) e um em país de renda média (Brasil). No que diz respeito ao grupo etário avaliado, dois avaliaram os indivíduos na infância (5<sup>17</sup> e 8<sup>18</sup> anos), dois na idade adulta (30<sup>20</sup> e 31<sup>16</sup> anos) e um avaliou idosos (71<sup>15</sup> anos). Ao todo esta revisão incluiu informação de 5821 indivíduos.

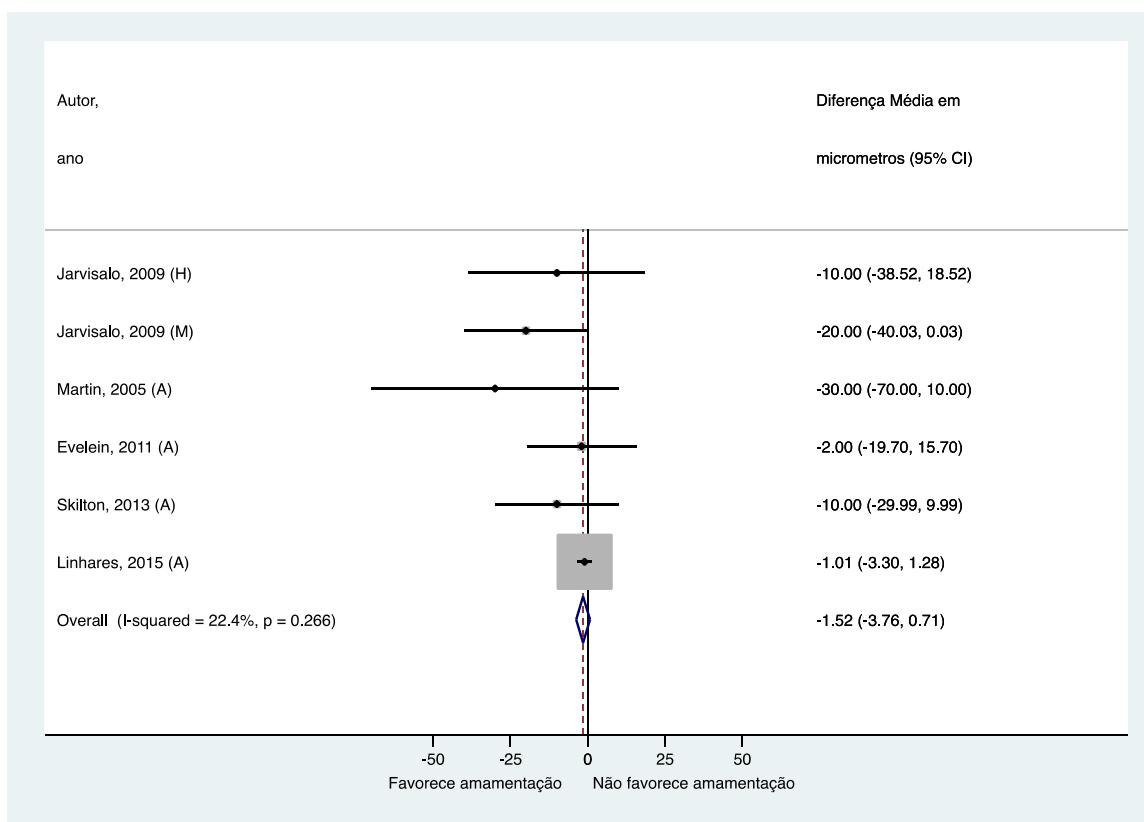


Figura 2. Diferença de média da ECMIC em indivíduos amamentados em comparação com aqueles que receberam fórmula (ou não amamentaram ou amamentaram pouco tempo). A=Ambos; H=Homens; M=Mulheres

A Figura 2 mostra que a heterogeneidade entre os estudos foi baixa ( $I^2=24,1\%$ ). Todos estudos relataram que os indivíduos que foram amamentados apresentavam menor ECMIC, mas para todos os estudos, o intervalo de confiança incluiu a referência (zero). A estimativa combinada, usando modelo fixo, foi de  $-1,52 \mu\text{m}$  (IC 95%:  $-3,76$ ;  $0,71$ ).

A Tabela 2 mostra que a diferença média na ECMIC entre os indivíduos amamentados por grupos de idade não apresentou diferença entre os grupos de  $<30$  e  $\geq 30$  anos. Por outro lado, os estudos que compararam indivíduos amamentados e nunca amamentados, relataram maior proteção da amamentação [diferença média  $-18,61 \mu\text{m}$  (IC 95%:  $-33,78$ ;  $-3,44$ ), em relação aqueles que compararam grupos com diferentes durações da amamentação.

Tabela 2. Diferença média na ECMIC entre indivíduos amamentados e não amamentados, de acordo com características dos estudos.

<b>Variáveis</b>	<b>Número de estimativas</b>	<b>Diferença média da ECMIC em <math>\mu\text{m}</math> (IC 95%)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Grupos de idade</b>			
<30 anos	2	$-5,52 (-18,77; 7,74)$	0,42
$\geq 30$ anos	4	$-1,40 (-3,67; 0,86)$	0,23
<b>Categorização da amamentação</b>			
Qualquer amamentação	3	$-1,14 (-3,40; 1,12)$	0,32
Nunca amamentado	3	$-18,61 (-33,78; -3,44)$	0,02
<b>Total</b>	<b>6</b>	<b><math>-1,52 (-3,76; 0,72)</math></b>	



## DISCUSSÃO

Esta revisão identificou seis estudos que avaliaram a relação entre amamentação e ECMIC, mas um destes foi excluído porque não comparou categorias de amamentação, apresentou apenas o efeito da duração da amamentação em meses sobre a ECMIC.<sup>19</sup> Apesar do pequeno número de estudos identificados (5), consideramos que a chance de viés de publicação é pequena, uma vez que a maioria dos estudos teve um tamanho de amostra grande, o estudo com menor tamanho de amostra avaliou 300 participantes. A maioria dos estudos observou um pequeno benefício da amamentação, com menor ECMIC entre os indivíduos amamentados, mas o intervalo de confiança da estimativa agrupada incluiu a referência. Portanto, não podemos excluir que esta diferença tenha ocorrido devido ao acaso.

Ao estratificar a análise de acordo com a idade, observamos que a magnitude do efeito benéfico da amamentação foi maior nos dois estudos realizados com crianças [diferença média -5,52  $\mu\text{m}$  (IC 95%: -18,77; 7,74)]<sup>17, 18</sup> do que naqueles com indivíduos com 30 anos ou mais<sup>15, 16, 2015, 16, 2015, 16, 20</sup> [diferença média -1,40 (IC 95%: -3,67; 0,86)]<sup>14, 15, 19</sup>, mas estas diferenças não foram estatisticamente significativas. Em decorrência do pequeno número de estudos não podemos concluir que um eventual efeito benéfico da amamentação diminui com o tempo.

Existem diferenças metodológicas em relação à medida da ECMIC que pode influenciar os resultados encontrados. O Consenso de Mannheim<sup>13</sup> recomenda que seja utilizada a média das médias da ECMIC da artéria carótida comum direita e esquerda, porém somente o estudo brasileiro<sup>20</sup> seguiu esse protocolo. Jarvisalo<sup>16</sup> utilizou apenas a carótida esquerda, Evelein<sup>17</sup> utilizou à direita, Martin<sup>15</sup> utilizou média do ponto mais espesso, Skilton<sup>18</sup> utilizou ponto mais espesso da artéria direita ou esquerda. Segundo o Consenso<sup>13</sup> valores médios são menos suscetíveis a erros, enquanto valores de maior espessura podem refletir estágios mais avançados de espessamento focal ou placas. A maior espessura também pode estar mais sujeito a erros de medição e erros de amostras. Os autores que não seguiram a recomendação do protocolo podem ter introduzido erro não diferencial e terem subestimado a estimativa de efeito.

No tocante as categorias de duração da amamentação comparadas, foi observada heterogeneidade, dois estudos<sup>15, 16</sup> compararam indivíduos que receberam leite materno com os nunca amamentados, enquanto que os demais compararam diferentes categorias de duração da amamentação. O maior efeito protetor da amamentação foi observado entre indivíduos amamentados e não amamentados de -8,61

(-33,78; -3,44), pois conforme esperado, grupos de indivíduos que não receberam leite materno devem apresentar maior risco de DCV e maior ECMIC do que grupos que receberam algum aleitamento materno. Por outro lado, quando nos dois grupos de comparação temos indivíduos que receberam leite materno por tempos diferentes de duração de amamentação, devem relatar menores diferenças, conforme observamos.

Em decorrência do pequeno número de estudos avaliando a relação entre amamentação e a ECMIC, sugerem-se novos estudos e que a ECMIC seja mensurada conforme recomendado pelo Consenso de Mannheim.<sup>13</sup>

Tabela 1. Estudos que avaliaram a relação entre amamentação e espessura do complexo médio-intimal carotídeo.

Autor, Ano	Desenho do estudo	País	Idade média	N	Sexo	Metodologia da coleta da ECMIC	Categorização da amamentação	Diferença da média da ECMIC em micrômetros, Intervalo de Confiança de 95%
Martin, 2005 <sup>15</sup>	Coorte	Inglaterra	71 anos	306	Ambos	Média do ponto mais espesso da artéria carótida comum direita e esquerda.	Recebeu leite materno X Nunca foi amamentado	-30,00 µm, IC 95%: -70,00; 10,00
Järvisalo, 2009 <sup>16</sup>	Coorte	Finlândia	31 anos	1667	Ambos	Artéria carótida comum esquerda.	Recebeu leite materno X Nunca foi amamentado	Homens: -10,00 µm, IC 95%: -38,56; 18,56 Mulheres: -20,00 µm, EP:10,22; IC 95%: -40,06; 0,06
Evelein, 2011 <sup>17</sup>	Coorte	Holanda	5 anos	300	Ambos	Artéria carótida comum direita.	Aleitamento materno >6 meses X Nunca foi amamentado	-2 µm, IC 95% -19,7; 15,7
Skilton, 2013 <sup>18</sup>	Coorte	Austrália	8 anos	360	Ambos	Ponto mais espesso da artéria carótida comum direita ou esquerda,	Aleitamento materno >6 meses X Aleitamento materno <6 meses	-10,00 µm, IC 95%: -30,00; 10,00
Linhares, 2015 <sup>20</sup>	Coorte	Brasil	30 anos	3188	Ambos	Média da artéria carótida comum direita e esquerda.	Aleitamento materno >12meses X Aleitamento materno <1mês	-1,01 µm, IC 95%: -3,30; 1,27

## REFERÊNCIAS:

1. Effect of breastfeeding on infant and child mortality due to infectious diseases in less developed countries: a pooled analysis. WHO Collaborative Study Team on the Role of Breastfeeding on the Prevention of Infant Mortality. *Lancet*. 2000;355(9202):451-5. Epub 2000/06/07.
2. Mendis S, Puska P, Norrving B, World Health Organization., World Heart Federation., World Stroke Organization. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. 2011:vi, 155 p.
3. Barker DJP. The origins of the developmental origins theory. *Journal of Internal Medicine*. 2007;261(5):412-7.
4. Hales CN, Barker DJP. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992;35(7):595-601.
5. Horta BL, Bahl R, Martines JC, Victora CG. Evidence on the long-term effects of breastfeeding. Systematic reviews and meta-analyses. World Health Organization Publication: Geneva, Switzerland. 2007.
6. Agostoni C, Braegger C, Decsi T, Kolacek S, Koletzko B, Michaelsen KF, et al. Breast-feeding: A Commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2009;49(1):112-25.
7. Tracy RE, Newman Iii WP, Wattigney WA, Srinivasan SR, Strong JP, Berenson GS. Histologic features of atherosclerosis and hypertension from autopsies of young individuals in a defined geographic population: the Bogalusa Heart Study. *Atherosclerosis*. 1995;116(2):163-79.
8. Raitakari OT, Juonala M, Kähönen M, Taittonen L, Laitinen T, Mäki-Torkko N, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: The cardiovascular risk in young finns study. *Jama*. 2003;290(17):2277-83.
9. Mendis S, Nordet P, Fernandez-Britto JE, Sternby N. Atherosclerosis in children and young adults: An overview of the World Health Organization and International Society and Federation of Cardiology study on Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth study (1985–1995). *Prevention and Control*. 2005;1(1):3-15.

10. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK. Carotid-Artery Intima and Media Thickness as a Risk Factor for Myocardial Infarction and Stroke in Older Adults. *New England Journal of Medicine*. 1999;340(1):14-22.
11. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74(6):1399-406.
12. Amato M, Montorsi P, Ravani A, Oldani E, Galli S, Ravagnani PM, et al. Carotid intima-media thickness by B-mode ultrasound as surrogate of coronary atherosclerosis: correlation with quantitative coronary angiography and coronary intravascular ultrasound findings. *European heart journal*. 2007;28(17):2094-101.
13. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, et al. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovascular Diseases*. 2012;34(4):290-6.
14. Owen CG, Whincup PH, Odoki K, Gilg JA, Cook DG. Infant Feeding and Blood Cholesterol: A Study in Adolescents and a Systematic Review. *Pediatrics*. 2002;110(3):597-608.
15. Martin RM, Ebrahim S, Griffin M, Smith GD, Nicolaidis AN, Georgiou N, et al. Breastfeeding and atherosclerosis - Intima-media thickness and plaques at 65-year follow-up of the Boyd Orr cohort. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*. 2005;25(7):1482-8.
16. Jarvisalo MJ, Hutri-Kahonen N, Juonala M, Mikkila V, Rasanen L, Lehtimaki T, et al. Breast feeding in infancy and arterial endothelial function later in life. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *European journal of clinical nutrition*. 2009;63(5):640-5. Epub 2008/02/21.
17. Evelein AM, Geerts CC, Visseren FL, Bots ML, van der Ent CK, Grobbee DE, et al. The association between breastfeeding and the cardiovascular system in early childhood. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2011;93(4):712-8.
18. Skilton MR, Marks GB, Ayer JG, Garden FL, Garnett P, Harmer JA, et al. Weight Gain in Infancy and Vascular Risk Factors in Later Childhood. *Pediatrics*. 2013;131(6):E1821-E8.

19. Pirila S, Taskinen M, Viljakainen H, Maki-O, Kajosaari M, Saarinen-Pihkala UM, et al. Breast-fed infants and their later cardiovascular health: a prospective study from birth to age 32 years. *British Journal of Nutrition*. 2014;111(6):1069-76.
20. Linhares RS, Gigante DP, Barros FC, Horta BL. Carotid Intima-Media Thickness at Age 30, Birth Weight, Accelerated Growth during Infancy and Breastfeeding: A Birth Cohort Study in Southern Brazil. *PLoS ONE*. 2015;10(1):e0115166.

Artigo original 2 – “Carotid Intima-Media Thickness at Age 30, Birth Weight, Accelerated Growth during Infancy and Breastfeeding: A Birth Cohort Study in Southern Brazil”.

Artigo publicado na revista PLOS ONE (ISSN: 1932-6203) em 22 de janeiro de 2015.

RESEARCH ARTICLE

# Carotid Intima-Media Thickness at Age 30, Birth Weight, Accelerated Growth during Infancy and Breastfeeding: A Birth Cohort Study in Southern Brazil

Rogério da Silva Linhares\*, Denise Petrucel Gigante, Fernando Celso Lopes Fernandes de Barros, Bernardo Lessa Horta

Postgraduate Program in Epidemiology, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

\* [rogerio.linhares@gmail.com](mailto:rogerio.linhares@gmail.com)



**OPEN ACCESS**

**Citation:** Linhares RdS, Gigante DP, de Barros FCLF, Horta BL (2015) Carotid Intima-Media Thickness at Age 30, Birth Weight, Accelerated Growth during Infancy and Breastfeeding: A Birth Cohort Study in Southern Brazil. PLoS ONE 10(1): e0115166. doi:10.1371/journal.pone.0115166

**Academic Editor:** Odair A. Dellagostin, Federal University of Pelotas, BRAZIL

**Received:** July 31, 2014

**Accepted:** November 19, 2014

**Published:** January 22, 2015

**Copyright:** © 2015 Linhares et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper.

**Funding:** This article is based on data from the study "Pelotas Birth Cohort, 1982" conducted by the Postgraduate Program in Epidemiology at Universidade Federal de Pelotas with the collaboration of the Brazilian Public Health Association (ABRASCO). This study was supported by the Wellcome Trust and the Brazilian Research Council (CNPq). Previous phases of the study were supported by the International Development Research Center, the World Health Organization, Overseas Development Administration,

## Abstract

### Objective

To examine the relationship between carotid intima-media thickness (IMT) at age 30 and birth characteristics, growth during infancy, and breastfeeding duration, among subjects who have been prospectively followed since birth.

### Methods and Results

In 1982, all births in the city of Pelotas, southern Brazil, were identified and those children ( $n = 5,914$ ) whose families lived in the urban area of the city have been followed and evaluated at several time points. The cohort participants were evaluated in 2012–13, and IMT was measured at the posterior wall of the right and left common carotid arteries in longitudinal planes using ultrasound imaging. We obtained valid IMT measurements for 3,188 individuals. Weight-for-age z-score (WAZ) at age 2 years, weight-for-height z-score (WHZ) at age 4, height-for-age z-score (HAZ) at 4 years, WAZ at age 4 and relative conditional weight at 4 years were positively associated with IMT, even after controlling for confounding variables. The beta-coefficient associated with  $\geq 1$  s.d. WAZ at age 2 (compared to those with a  $< -1$  s.d.) was  $3.62 \mu\text{m}$  (95% CI 0.86 to 6.38). The beta-coefficient associated with  $\geq 1$  s.d. WHZ at 4 (in relation to  $< -1$  s.d.) was  $3.83 \mu\text{m}$  (95% CI 0.24 to 7.42). For HAZ at 4, the beta-coefficient for  $\geq 1$  s.d. in relation to  $< -1$  s.d. was  $4.19 \mu\text{m}$  (95% CI 1.14 to 7.25). For WAZ at 4, the beta-coefficient associated with  $\geq 1$  s.d. in relation to  $< -1$  s.d. was  $4.28 \mu\text{m}$  (95% CI 1.59 to 6.97). The beta-coefficient associated with conditional weight gain at age 2–4 was  $1.26 \mu\text{m}$  (95% CI 0.49 to 2.02).

### Conclusion

IMT at age 30 was positively associated with WAZ at age 2 years, WHZ at age 4, HAZ at age 4, WAZ at age 4 and conditional weight gain at age 4 years.



European Union, National Support Program for Centers of Excellence (PRONEX), the Brazilian National Research Council (CNPq) and Brazilian Ministry of Health.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

## Introduction

Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death worldwide.[1] In 2008, there were 17.3 million deaths from CVD, of which 7.3 million from myocardial infarction and 6.2 million from stroke, and over 80% of deaths from CVD occurred in low- and middle-income countries.[1] Myocardial infarction and stroke are strongly related to atherosclerotic disease.

Atherosclerosis is characterized by the gradual thickening of the intimal and medial layers in large and medium-sized arteries. The measurement of carotid intima-media thickness (IMT), which is the main marker of atherosclerosis, has been used in epidemiological studies.[2–5] IMT of large peripheral arteries can be measured using high-resolution two-dimensional ultrasound imaging. This method is non-invasive, relatively simple and does not involve radiation exposure. In addition, the ultrasound measurement of IMT has a good correlation with histological measures of the aorta and carotid arteries.[3]

With respect to the programming effect of early exposures on carotid IMT, most of the studies have failed to report an effect of low birth weight,[6–9] whereas there is some controversy on the association between breastfeeding and IMT [10–12]. Concerning weight gain, it has been suggested that IMT is positively associated with catch-up growth. Oren et al<sup>9</sup> found that IMT in early adulthood was higher among low birth weight subjects who showed exaggerated weight gain in the first 2 years. Skilton et al [13] reported that weight gain, height-adjusted weight gain, and change in weight-for-height z score in the first 18 months was positively associated with IMT at 8 years. Evelein et al [14], reported that an excess of weight gain in relation to length in the first 3 months of life was positively associated with IMT at 5 years. Whereas, Leunissen et al observed that IMT was higher among subjects who were born SGA but had normal height at adulthood.[15]

This study was aimed at assessing the relationship of mean IMT, with birth weight, breastfeeding duration, anthropometric measurements and growth during childhood in a cohort of young adults that have been followed since birth.

## Methods

In 1982, the three maternity hospitals in Pelotas, a southern Brazilian city, were visited daily and the births were identified. Those liveborns ( $n = 5,914$ ) whose family lived in the urban area of the city were examined and their mothers interviewed. The refusal rate was less than 1%. In the perinatal study, information on maternal and child health, family socioeconomic conditions, and pregnancy complications were collected. These subjects have been followed-up for several times and further information on the study methodology has been published elsewhere.[16–18] The subjects were followed up during childhood in 1984 and 1986. At these follow-ups, the mothers or guardians were interviewed and the children weighed and measured.

In 2012–13, we tried to contact the cohort members, which were invited to visit the study clinic. They were asked to sign an informed consent form and then were interviewed, examined, and a blood sample was drawn. IMT was measured at the posterior wall of the right and left common carotid arteries in longitudinal planes using ultrasound imaging.[5] A 10-mm-long section of the common carotid artery was imaged proximal to the carotid bulb. Image data was analyzed using the Carotid Analyzer for Research (Medical Imaging Applications, MIA-LLC). It automatically calculated the mean value of 90 measurements (frames) taken in the 10-mm-long section studied.

Birth weight measurements were taken with a pediatric scale that was calibrated on a weekly basis. Gestational age was calculated from the last menstrual period and birth weight according to gestational z-score was estimated based on the mean birth weight and standard deviations for gestational age and sex of the reference population developed by Williams.[19] Information

on duration of breastfeeding (in months) was gathered in all follow-ups during childhood. In the follow-up visits, z-scores for weight-for-age (WAZ), height-for-age (HAZ) and weight-for-height (WHZ) were calculated using sex and age specific values of the WHO growth charts. [20] Concerning anthropometric evaluation in the 1984 and 1986 visits, children were weighed with portable calibrated scales and length/height was measured using portable stadiometers.

Conditional weight/height is the residual of linear regression of all previous measurements of weight/height. This analysis takes into consideration the correlation between weight or length gain in subsequent age ranges, as well as regression to the mean. [21] The regression equation for height at age 2 years consisted of birth weight while the regression equation for weight at age 2 included birth weight and height at age 2. Conditional height at age 4 years was estimated from birth weight and weight and height measures at age 2. Conditional weight at age 4 years was estimated from birth weight, weight at 2 and 4 years, and height at 2 years. Positive results indicated that a child grew more rapidly than expected during that period compared with their prior growth and the population growth. Conditional variables were expressed in z-scores. Conditional growth represents the deviation from the expected weight or height, compared to other individuals from the population.

Potential confounding variables included family income at birth, maternal schooling, maternal skin color, maternal age, maternal smoking during pregnancy, skin color and sex. Analysis of variance was used to compare difference between means and multiple linear regression to adjust for confounding variables. The estimates for childhood anthropometry and growth were also adjusted for birth weight according to age z-score. The estimates for conditional height and weight were also adjusted for height at 30 years, because height is positively associated with blood pressure and IMT is associated with blood pressure. [22]

The institutional review board at the Universidade Federal de Pelotas Medical School approved the study protocol and all participants signed a written consent prior to all interviews and assessments.

## Results

We evaluated 3,701 subjects at the 30-year follow-up, which added to the 366 known to have died, represented a follow-up rate of 68.8%. Measurements of IMT were taken for 3,380 participants and they were valid for 3,188, and for 192 subjects the MIA-LLC software was not able to analyze the images.

Table 1 shows that the 30-year follow-up rate was lower among male and those subjects whose family income at birth was higher than 6 minimum wages. Birth weight, duration of breastfeeding and maternal skin color were not associated with follow-up rate.

Birth weight was positively associated with IMT, but this association wasn't observed even after controlling for potential confounding variables. On the other hand, prematurity, birth weight according to gestational age z-score and duration of breastfeeding were not associated with IMT. There was a positive association between duration of breastfeeding and IMT up to 11.9 months; a lower IMT was observed among those breastfed for more than 12 months. But a non-significant association was observed, after controlling for confounding variables (Table 2).

Table 3 shows that WAZ at age 2, WHZ at age 4, HAZ at age 4 and WAZ at age 4 were positively associated with IMT, even after controlling for confounding variables. With respect to growth in childhood, relative conditional weight in the first 2 years of life was not associated with IMT while relative weight gain at 4 years was positively associated with IMT. Suggesting, that relative weight gain from 2 to 4 years was associated with higher IMT. On the other hand, there was no association between height gain and IMT.

**Table 1. Distribution of characteristics, interviews and measurements of carotid intima-media thickness in the original cohort participants at the follow-up in 2012.**

Variable	Followed in 2012 (% original cohort)	IMT measurements (% participants in 2012) *
<b>Sex</b>		
Male	2010 (66.2)	1585 (69.2)
Female	2045 (71.1)	1603 (83.8)
<b>Maternal skin color</b>		
White	3299 (68.0)	2623 (86.4)
Non-white	755 (71.2)	564 (86.4)
<b>Family income at birth in minimum wages</b>		
≤1.0	857 (66.5)	628 (86.7)
1.1–3.0	1984 (71.1)	1558 (86.0)
3.1–6.0	758 (69.5)	623 (86.5)
>6.0	436 (80.8)	366 (87.8)
<b>Birth weight (grams)</b>		
<2500	385 (72.1)	223 (84.2)
2500–2999	970 (89.6)	735 (84.3)
3000–3499	1477 (66.5)	1215 (87.6)
3500–3999	988 (89.7)	824 (88.0)
>4000	232 (87.3)	190 (86.8)
<b>Prematurity (&lt;37 weeks of gestation)</b>		
No	3005 (68.6)	2431 (86.6)
Yes	220 (74.8)	148 (88.6)
<b>Gestational age-adjusted birth weight z-scores (Williams)</b>		
<−1.28	482 (89.2)	364 (86.5)
−1.28–0.00	1433 (67.5)	1135 (85.7)
>0.00	1306 (70.6)	1079 (87.8)
<b>Duration of breastfeeding</b>		
<1 month	817 (89.8)	646 (84.9)
1–2.9 months	972 (89.2)	799 (87.3)
3–5.9 months	874 (72.1)	730 (88.5)
6–8.9 months	355 (71.4)	300 (88.0)
9–11.9 months	148 (70.8)	114 (80.3)
12 months or more	610 (72.8)	501 (85.4)
<b>Total</b>	<b>4056 (68.6)</b>	<b>3188 (86.1)</b>

The 1982 Pelotas Birth Cohort, Brazil

\* The total represented the subjects who were interviewed in 2012–13 (n = 3701)

IMT: intima-media thickness

doi:10.1371/journal.pone.0115166.t001

## Discussion

In this cohort that has been followed since birth, WAZ at age 2, WHZ at age 4, HAZ at age 4, WAZ at age 4 and relative weight gain at 4 years were positively associated with IMT, whereas we did not observe any association of weight gain in the first two years of life and linear growth (height or length gain) with IMT.

Information on birth weight was collected by the research team soon after delivery and examiners who had been carefully trained and standardized carried out the anthropometrical assessment in childhood. In the same token, data on breastfeeding duration was collected close to the time of weaning. Ensuring, therefore, the quality of the data and minimizing the susceptibility to

**Table 2. Crude and adjusted analysis of the association of birth weight and breastfeeding with carotid intima-media thickness in the cohort participants at the follow-up in 2012.**

Variable	N	Mean IMT µm	Regression coefficient	
			Crude β (95% CI)	Adjusted β (95% CI)
Birth weight (grams)				
<2500	223	581.6	Ref (0)	Ref (0)
2500–2999	735	581.6	−0.00 (−2.78 to 2.78)	0.66 (−2.55 to 3.87)
3000–3499	1215	582.1	0.50 (−2.15 to 3.15)	0.24 (−3.28 to 3.76)
3500–3999	824	583.1	1.51 (−1.24 to 4.25)	0.52 (−3.79 to 4.83)
≥4000	190	585.5	3.94 (0.35 to 7.53)	1.53 (−4.43 to 7.50)
Prematurity (<37 weeks of gestation)				
No	2431	582.4	Ref (0)	Ref (0)
Yes	148	580.9	−1.47 (−4.40 to 1.45)	−1.62 (−4.50 to 1.25)
Gestational age-adjusted birth weight z-scores (Williams)				
<−1.28	364	581.9	Ref (0)	Ref (0)
−1.28 to 0.00	1135	581.6	−0.36 (−2.44 to 1.72)	0.16 (−1.91 to 2.23)
>0.00	1079	583.2	1.25 (−0.85 to 3.34)	2.04 (−0.07 to 4.15)
Duration of breastfeeding				
<1 month	646	582.1	Ref (0)	Ref (0)
1–2.9 months	799	582.3	0.16 (−1.77 to 2.08)	−0.09 (−2.11 to 1.94)
3–5.9 months	730	582.3	0.17 (−1.79 to 2.13)	−0.18 (−2.23 to 1.88)
6–8.9 months	300	582.8	0.68 (−1.86 to 3.22)	1.65 (−1.01 to 4.31)
9–11.9 months	114	585.8	3.69 (0.00 to 7.39)	2.97 (−0.94 to 6.87)
12 months or more	501	581.5	−0.58 (−2.74 to 1.59)	−1.01 (−3.30 to 1.27)

The 1982 Pelotas Birth Cohort, Brazil

Adjusted for confounding variables: family income at birth; maternal skin color; maternal age at child birth; maternal education; maternal smoking; sex; and skin color

doi:10.1371/journal.pone.0115166.t002

misclassification. Concerning selection bias, we followed up 68.8% of the cohort and managed to measure IMT among most of them (86.1%). Attrition rate was slightly higher among the wealthy subjects. On the other hand, in order to be the cause of the observed association, the losses should be related either to the nutrition in childhood and to IMT. Because this association is unlikely, we believe that the observed association was not due to selection bias.

A study conducted in Southern California with individuals aged 11 years also reported a positive association between birth weight and IMT, [2] whereas the Dutch ARYA study found that birth weight was negatively associated with IMT at 27 to 30 years of age. Our findings go in opposite direction to what has been proposed by Barker, i.e, low birth weight would be associated with a higher risk for cardiovascular diseases in adulthood. Therefore, we would expect a higher IMT among low birth weight subjects.[23] In the same token, we observed that WAZ and HAZ in childhood, were positively associated with IMT. Therefore, undernutrition in childhood was not associated with this variable, considered as a higher cardiovascular risk.

With respect to breastfeeding, a Dutch birth cohort (n = 306) observed among children aged 5 years that those who had been exclusively breastfed for 3 to 6 months had a carotid intima media thickness 21.1 µm (95% 5.0 to 37.2) higher than those who had never been breastfed, after controlling for confounding [10]. However, a population-based cohort study of Finnish young adults (n = 1,667) found no association of breastfeeding with IMT aged 24 to 39 years [11]. On the other hand, a British cohort study (aged 65 years) reported an inverse association

**Table 3. Crude and adjusted analyses of the association of anthropometric measures of children and accelerated growth during infancy with carotid intima-media thickness in the cohort participants at the follow-up in 2012.**

Variable	N	Crude analysis	Adjusted analysis 1
		$\beta$ (95% CI)	$\beta$ (95% CI)
<b>Weight-for-height z-score at age 2</b> (n = 2348)			
<-1	151	Ref (0)	Ref (0)
-1 to 0.99	1809	0.62 (-2.56 to 3.80)	1.12 (2.36 to 4.60)
$\geq 1$	961	3.29 (0.01 to 6.57)	2.63 (-1.00 to 6.25)
<b>Height-for-age z-score at age 2</b> (n = 2348)			
<-1	1105	Ref (0)	Ref (0)
-1 to 0.99	1590	-0.19 (-1.62 to 1.24)	0.35 (-1.24 to 1.93)
$\geq 1$	227	1.46 (-1.21 to 4.12)	2.19 (-0.72 to 5.10)
<b>Weight-for-age z-score at age 2</b> (n = 2348)			
<-1	402	Ref (0)	Ref (0)
-1 to 0.99	1937	0.30 (-1.72 to 2.32)	0.89 (-1.37 to 3.15)
$\geq 1$	582	4.08 (1.70 to 6.46)	3.62 (0.86 to 6.38)
<b>Weight-for-height z-score at age 4</b> (n = 2300)			
<-1	138	Ref (0)	Ref (0)
-1 to 0.99	1875	0.72 (-2.51 to 3.94)	1.75 (-1.68 to 5.18)
$\geq 1$	847	4.54 (1.18 to 7.89)	3.83 (0.24 to 7.42)
<b>Height-for-age z-score at age 4</b> (n = 2301)			
<-1	1046	Ref (0)	Ref (0)
-1 to 0.99	1626	0.24 (-1.20 to 1.68)	0.38 (-1.19 to 1.96)
$\geq 1$	189	4.10 (1.24 to 6.96)	4.19 (1.14 to 7.25)
<b>Weight-for-age z-score at age 4</b> (n = 2302)			
<-1	458	Ref (0)	Ref (0)
-1 to 0.99	1961	0.76 (-1.14 to 2.66)	0.86 (-1.22 to 2.94)
$\geq 1$	443	5.03 (2.61 to 7.46)	4.28 (1.59 to 6.97)
<b>Conditional height gain at age 0-2</b> (n = 2175)			
	2189	0.30 (-0.45 to 1.04)	*0.86 (-0.09 to 1.80)
<b>Conditional height gain at age 2-4</b> (n = 2175)			
	2189	0.63 (-0.11 to 1.37)	*0.43 (-0.39 to 1.25)
<b>Conditional weight gain at age 0-2</b> (n = 2175)			
	2189	0.69 (-0.06 to 1.44)	*0.67 (-0.06 to 1.41)
<b>Conditional weight gain at age 2-4</b> (n = 2175)			
	2189	1.51 (0.74 to 2.28)	*1.26 (0.49 to 2.02)

The 1982 Pelotas Birth Cohort, Brazil.

Adjusted for confounding variables 1: family income at birth; maternal skin color; maternal age at child birth; maternal education; maternal smoking; birth weight according to age z-score; sex and skin color

\*Adjusted for 1 + height at 30 years

doi:10.1371/journal.pone.0115166.t003

between breastfeeding and IMT (difference  $-0.03$  mm, 95% CI  $-0.07$  to  $0.01$ ), but after controlling for confounding variables, a non-significant association was observed [12]. Our results stress the importance of controlling for confounding factors to avoid residual confounding. In our cohort, the duration of breastfeeding was inversely associated with socioeconomic condition and IMT. For this reason, the unadjusted analysis showed that breastfeeding was positively related to IMT and after controlling for several socioeconomic and demographic variables, the association disappeared.

Concerning weight gain, Skilton et al observed that weight gain from 0 to 18 months of age, was positively associated with carotid extra-medial thickness aged 8-years (11 mm per kg length-adjusted weight gain 95% CI 3 to 18), indicating that the alterations to the vasculature associated with excessive early postnatal growth likely include arterial adventitial thickening [24]. However, our study no found association between weight gain from 0 to 2 years and IMT at age 30. In another analyses, Skilton et al reported that weight gain, height-adjusted weight gain, and change in weight-for-height z score in the first 18 months was positively associated with IMT at 8 years [13].

Similarly to other studies, [25] we found that the adverse long-term effects of accelerated growth in infancy depend on the timing that growth acceleration occurs. IMT was not associated to early weight gain but to relative weight gain from 2 to 4 years of age. On the other hand, linear growth was not related to IMT. Taking together the evidence from our study with that from others ones reporting that early weight gain has a long-term benefit on human capital [26, 27] and cardiovascular risk factors, whereas late weight gain has no effect on human capital and increase cardiovascular risk factors.[25, 28] Therefore, early growth should be stimulated, but relative weight after the first two years should be prevented. On the other hand, promotion of linear growth does not seem to increase the risk of cardiovascular disease.

### Acknowledgments

This article is based on data from the study "Pelotas Birth Cohort, 1982" conducted by the Postgraduate Program in Epidemiology at Universidade Federal de Pelotas with the collaboration of the Brazilian Public Health Association (ABRASCO). This study was supported by the Wellcome Trust and the Brazilian Research Council (CNPq). Previous phases of the study were supported by the International Development Research Center, the World Health Organization, Overseas Development Administration, European Union, National Support Program for Centers of Excellence (PRONEX), the Brazilian National Research Council (CNPq) and Brazilian Ministry of Health.

### Author Contributions

Conceived and designed the experiments: RSL BLH DPG FCLFB. Performed the experiments: RSL BLH DPG. Analyzed the data: RSL BLH. Contributed reagents/materials/analysis tools: RSL BLH. Wrote the paper: RSL BLH DPG FCLFB.

### References

1. Mendis S, Puska P, Norrving B, World Health Organization, World Heart Federation, et al. (2011) Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. World Health Organization, Geneva. 155 p.
2. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, et al. (1999) Carotid-Artery Intima and Media Thickness as a Risk Factor for Myocardial Infarction and Stroke in Older Adults. *New England Journal of Medicine* 340(1):14–22. doi: [10.1056/NEJM199901073400103](https://doi.org/10.1056/NEJM199901073400103) PMID: [9978640](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9978640/)
3. Pignoli P, Tremolli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R (1986) Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 74(6):1399–406. doi: [10.1161/01.CIR.74.6.1399](https://doi.org/10.1161/01.CIR.74.6.1399) PMID: [3536154](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3536154/)
4. Amato M, Montesi P, Ravani A, Oldani E, Galli S, et al. (2007) Carotid intima-media thickness by B-mode ultrasound as surrogate of coronary atherosclerosis: correlation with quantitative coronary angiography and coronary intravascular ultrasound findings. *European Heart Journal* 28(17):2094–101. doi: [10.1093/eurheartj/ehm244](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm244) PMID: [17597051](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17597051/)
5. Touboul PJ, Hennefci MG, Mezirs S, Adams H, Amarenco P, et al. (2012) Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovascular Diseases* 34(4):290–6. doi: [10.1159/000343145](https://doi.org/10.1159/000343145) PMID: [23128470](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23128470/)

6. Hovi P, Turtalahti M, Strang-Karlsson S, Wehkalampi K, Järvenpää A-L, et al. (2011) Intima-Media Thickness and Flow-Mediated Dilatation in the Helsinki Study of Very Low Birth Weight Adults. *Pediatrics* 127(2):e304–e11. doi: [10.1542/peds.2010-2199](https://doi.org/10.1542/peds.2010-2199) PMID: [21262880](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21262880/)
7. Draitva J, Biston CV, Hods HN, Mack WJ, Salam MT, et al. (2012) Birth Weight and Carotid Artery Intima-Media Thickness. *The Journal of Pediatrics* 162(5):906–11. e1–2. doi: [10.1016/j.peds.2012.10.060](https://doi.org/10.1016/j.peds.2012.10.060) PMID: [23260106](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23260106/)
8. Gale CR, Ashurst HE, Hall NF, MacCallum PK, Martyn CN (2002) Size at birth and carotid atherosclerosis in later life. *Atherosclerosis* 163(1): 141–7. doi: [10.1016/S0021-9150\(01\)00780-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(01)00780-2) PMID: [12048132](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12048132/)
9. Oren A, Vos LE, Uitenwaal CSPM, Gorissen WHM, Grobbee DE, et al. (2004) Birth weight and carotid intima-media thickness: new perspectives from the atherosclerosis risk in young adults (ARYA) study. *Annals of epidemiology* 14(1):9–16. doi: [10.1016/S1047-2797\(03\)00068-1](https://doi.org/10.1016/S1047-2797(03)00068-1) PMID: [14684774](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14684774/)
10. Evelin AM, Geerts CC, Visseren FL, Bots ML, van der Ent CK, et al. (2011) The association between breastfeeding and the cardiovascular system in early childhood. *The American Journal of Clinical Nutrition* 93(4):712–8. doi: [10.3945/ajcn.110.002980](https://doi.org/10.3945/ajcn.110.002980) PMID: [21310835](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21310835/)
11. Jarvisalo MJ, Hutri-Kahonen N, Juonala M, Mikkilä V, Rasanen L, et al. (2008) Breast feeding in infancy and arterial endothelial function later in life. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Eur J Clin Nutr* 63(5):640–5. doi: [10.1038/ejcn.2008.17](https://doi.org/10.1038/ejcn.2008.17) PMID: [18285807](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18285807/)
12. Martin RM, Ebrahim S, Griffin M, Smith GD, Nicolaides AN, et al. (2005) Breastfeeding and Atherosclerosis: Intima-Media Thickness and Plaques at 65-Year Follow-Up of the Boyd Orr Cohort. *Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 25(7):1482–8. doi: [10.1161/01.ATV.000.170129.2005.09.48](https://doi.org/10.1161/01.ATV.000.170129.2005.09.48) PMID: [15890972](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15890972/)
13. Skilton MR, Marks GB, Ayer JG, Garden FL, Garnett SP, et al. (2013) Weight Gain in Infancy and Vascular Risk Factors in Later Childhood. *Pediatrics* 131(6):e1821–e8. doi: [10.1542/peds.2012-2789](https://doi.org/10.1542/peds.2012-2789) PMID: [23713097](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23713097/)
14. Evelin AMV, Visseren FLJ, van der Ent CK, Grobbee DE, Uitenwaal CSPM (2013) Excess Early Postnatal Weight Gain Leads to Thicker and Stiffer Arteries in Young Children. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96(2):794–801. doi: [10.1210/nc.2012-3208](https://doi.org/10.1210/nc.2012-3208)
15. Launissen RWJ, Kerkhof GF, Sijnen T, Hokken-Koelega ACS (2012) Effect of Birth Size and Catch-Up Growth on Adult Blood Pressure and Carotid Intima-Media Thickness. *Hormone Research in Paediatrics* 77(6):394–401. doi: [10.1159/000338791](https://doi.org/10.1159/000338791) PMID: [22760117](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22760117/)
16. Victora CG, Barros FC (2008) Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology* 36(2):237–42. doi: [10.1093/ije/dyn290](https://doi.org/10.1093/ije/dyn290) PMID: [18373375](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18373375/)
17. Barros FC, Victora CG, Horta BL, Gigante DP (2008) Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004–5, Pelotas, RS. *Revista de Saúde Pública* 42:7–15. PMID: [19142340](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19142340/)
18. Victora CG, Barros FC, Lima RC, Behague DP, Gonçalves H, et al. (2003) The Pelotas birth cohort study, Rio Grande do Sul, Brazil, 1982–2001. *Cadernos de Saúde Pública*. 19:1241–56. doi: [10.1590/S0102-311X2003000500003](https://doi.org/10.1590/S0102-311X2003000500003) PMID: [14866206](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14866206/)
19. Williams RL, Creasy RK, Cunningham GC, Hawes WE, Norris FD, et al. (1982) Fetal growth and perinatal viability in California. *Obstetrics and gynecology* 59(5):624–32. PMID: [7070736](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7070736/)
20. Borghi E, de Onis M, Garza C, Van den Broeck J, Frongillo EA, et al. (2006) Construction of the World Health Organization child growth standards: selection of methods for attained growth curves. *Statistics in Medicine* 25(2):247–65. doi: [10.1002/sim.2227](https://doi.org/10.1002/sim.2227) PMID: [16143668](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16143668/)
21. Keijzer-Veen MG, Euser AM, van Montfort N, Dekker FW, Vandenberghe JP, et al. (2005) A regression model with unexplained residuals was preferred in the analysis of the fetal origins of adult diseases hypothesis. *Journal of Clinical Epidemiology* 58(12):1320–4. doi: [10.1016/j.jclinepi.2005.04.004](https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2005.04.004) PMID: [16291478](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16291478/)
22. Regnault N, Kleinman KP, Rifas-Shiman SL, Langenberg C, Lipshultz SE, et al. (2014) Components of height and blood pressure in childhood. *International Journal of Epidemiology* 43(1):149–59. doi: [10.1093/ije/dyt248](https://doi.org/10.1093/ije/dyt248) PMID: [24413933](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24413933/)
23. Barker DJ (1990) The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ*. 301(6761):1111. doi: [10.1136/bmj.301.6761.1111](https://doi.org/10.1136/bmj.301.6761.1111) PMID: [2252919](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2252919/)
24. Skilton MR, Sullivan TR, Ayer JG, Garden FL, Hamer JA, et al. (2014) Weight gain in infancy is associated with carotid extra-medial thickness in later childhood. *Atherosclerosis* 233(2):370–4. doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.020](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.01.020) PMID: [24530785](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24530785/)
25. Adair LS, Fall CHD, Osmond C, Stein AD, Martorell R, et al. (2013) Associations of linear growth and relative weight gain during early life with adult health and human capital in countries of low and middle income: findings from five birth cohort studies. *The Lancet* 382(9891):525–34. doi: [10.1016/S0140-6736\(13\)60103-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60103-8)

26. Horta BL, Gigante DP, Osmond C, Barros FC, Victora CG (2009) Intergenerational effect of weight gain in childhood on offspring birthweight. *International Journal of Epidemiology* 38(3): 724–32. doi: [10.1093/ije/dyp168](https://doi.org/10.1093/ije/dyp168) PMID: [19376983](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19376983/)
27. Mafovell R, Horta BL, Adair LS, Stein AD, Richter L, et al. (2010) Weight Gain in the First Two Years of Life Is an Important Predictor of Schooling Outcomes in Pooled Analyses from Five Birth Cohorts from Low- and Middle-Income Countries. *The Journal of Nutrition* 140(2):348–54. doi: [10.3945/jn.109.112300](https://doi.org/10.3945/jn.109.112300) PMID: [20007338](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20007338/)
28. Horta BL, Victora CG, Lima RC, Post P (2009) Weight gain in childhood and blood lipids in adolescence. *Acta Paediatrica* 98(6):1024–8. doi: [10.1111/j.1651-2227.2009.01247.x](https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2009.01247.x) PMID: [19484844](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19484844/)



Artigo original 3 – “Espessura do complexo médio-intimal carotídeo e fatores de risco cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas”.

Após as sugestões da banca o artigo será traduzido e submetido à revista PLOS ONE (ISSN: 1932-6203).

# **Título**

Espessura do complexo médio-intimal carotídeo e fatores de risco cardiovasculares aos 30 anos na coorte de 1982 em Pelotas.

## **Resumo**

Objetivo - Avaliar a relação entre a espessura do complexo médio intimal carotídeo (ECMIC) aos 30 anos e os fatores de risco cardiovasculares.

Métodos - Todos os nascidos vivos no ano de 1982 cuja família residia na área urbana da cidade de Pelotas, Brasil, foram identificados (n=5914) e tem sido acompanhados. No acompanhamento de 2012-13 os participantes foram entrevistados, examinados, coletada amostra de sangue e a ECMIC foi avaliada na parede posterior das artérias carótidas comum direita e esquerda.

Resultados – Foram entrevistados 3701 participantes da coorte e medidas válidas da ECMIC foram obtidas de 3188 indivíduos. Na análise ajustada, a ECMIC dos indivíduos fumantes aos 30 anos que também fumavam aos 23 anos foi 2,12  $\mu\text{m}$  [95% intervalo de confiança (IC): 0,07; 4,16] maior do que naqueles que nunca fumaram. Nas pessoas com sobrepeso e obesidade, a ECMIC foi 5,66  $\mu\text{m}$  (95% IC: 4,09; 7,22) e 10,39  $\mu\text{m}$  (95% IC: 8,56; 12,23) maior do que naqueles com peso adequado, respectivamente. A pressão arterial sistólica e diastólica esteve positivamente associada com a ECMIC. No mesmo sentido, os indivíduos com glicemia casual  $\geq 200$  mg/dL apresentaram maior ECMIC do que aqueles com glicemia  $< 110$  mg/dL [diferença 11,36  $\mu\text{m}$  (95% IC: 1,80; 20,91)]. O colesterol total, o LDL e os triglicérides também estiveram positivamente associados com a ECMIC enquanto que para o colesterol HDL a associação foi em

sentido oposto. A prática de atividade física no lazer, o consumo diário de frituras, e o consumo de bebidas alcólicas não estiveram associados com a ECMIC, após ajuste para fatores de confusão.

Conclusão – O consumo de tabaco aos 23 e 30 anos e os fatores metabólicos de risco cardiovascular índice de massa corporal, pressão arterial, glicemia, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicédeos estiveram associadas com a ECMIC, enquanto que dieta, prática de atividade física e ingestão de bebidas alcoólicas não apresentaram associação com a ECMIC.

# Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2012, as doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) foram responsáveis por 68% dos óbitos no mundo e as doenças cardiovasculares (DCV) foram responsáveis por 46% dos óbitos por DCNT.[1] A aterosclerose está na gênese do principal processo patológico das DCV, sendo que a ocorrência de infarto do miocárdio e de AVC, que são as principais causas de óbito por DCV, estão fortemente associadas a aterosclerose.[2]

A aterosclerose consiste no espessamento gradual da camada íntima das artérias de médio e grande porte, devido ao depósito de material gorduroso e de colesterol. O principal marcador de aterosclerose que tem sido utilizado em estudos epidemiológicos é a medida da espessura do complexo médio-intimal carotídeo (ECMIC)[3-6]. A espessura do complexo médio-intimal da carótida está positivamente associada com o risco de desenvolvimento de placa nas artérias, que levam a obstrução do fluxo sanguíneo. [6] A espessura do complexo médio-intimal das grandes artérias periféricas, especialmente das carótidas, pode ser avaliada pelo ultrassom (US) bidimensional de alta-resolução, um método relativamente simples, não invasivo e sem exposição à radiação[6].

Entre os principais fatores de risco comportamentais para DCV encontram-se o tabagismo, sedentarismo, dieta pouco saudável (ingesta de gordura saturada, gordura trans, colesterol, baixa ingestão de frutas, verduras e legumes) e uso abusivo de bebidas alcoólicas. [1] O tabagismo está positivamente associado com a ECMIC. [7, 8] Evidências sugerem que a prática de atividade física se associa inversamente com a ECMIC, [9, 10] enquanto que a ingestão de bebidas alcoólicas se associa positivamente.[11, 12] No tocante ao papel da alimentação no desenvolvimento da

aterosclerose, evidências sugerem que a alimentação saudável (maior ingestão de frutas, verduras, legumes, nozes, cereais integrais, peixe e gordura monoinsaturada em relação à gordura saturada) se associa inversamente com a ECMIC. [2, 13, 14]

No tocante aos fatores de risco metabólicos para o desenvolvimento de DCV encontram-se a dislipidemia, hiperglicemia, hipertensão arterial e obesidade. [1] A pressão arterial está associada positivamente com a ECMIC.[15-19] Indivíduos com pré-diabetes e diabetes também apresentam aumento da espessura do complexo médio-intimal carotídeo.[20, 21] No que diz respeito aos lipídeos sanguíneos, o colesterol total, o colesterol-LDL e os triglicérides se associam positivamente com a ECMIC, enquanto que o colesterol-HDL se associa inversamente.[8, 19, 22-24] O índice de massa corporal (IMC) está diretamente relacionado com a ECMIC.[8, 19, 25, 26]

O presente artigo tem como objetivo descrever a associação da ECMIC com fatores de risco cardiovasculares contemporâneos metabólicos (dosagem sérica de hemoglobina glicada, triglicérides, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol total, do índice de massa corporal e da pressão arterial) e comportamentais (dieta, sedentarismo, tabagismo e ingestão de bebidas alcoólicas), em adultos jovens pertencentes a coorte de nascimentos de 1982 de Pelotas.

# Metodologia

Pelotas é uma cidade localizada no sul do Brasil com uma população de cerca de 340.000 habitantes. Em 1982, todos os nascimentos hospitalares que ocorreram na cidade foram identificados e os 5914 nascidos vivos cujas mães residiam na zona urbana do município, foram identificados e as mães entrevistadas. No estudo perinatal, menos de 1% das mães se recusaram a participar do estudo. Estes indivíduos foram acompanhados por inúmeras vezes, maiores detalhes sobre os acompanhamentos da Coorte foram publicados previamente.[27, 28]

Em 2012, se tentou novamente acompanhar todos os participantes da coorte, que foram convidados a comparecer a clínica da pesquisa.[29] Os participantes da coorte eram entrevistados, examinados e foi coletada amostra de sangue.

Neste estudo utilizou-se como variável dependente a espessura do complexo médio-intimal carotídeo, medida aos 30 anos. A medida da ECMIC foi realizada na parede posterior das artérias carótidas comum direita e esquerda, em plano longitudinal, utilizando aparelho de ultrassom[6]. As imagens foram analisadas com o software Carotid Analyzer for Research, Medical Imaging Application (MIA- LLC) em uma região com 10 mm de extensão na carótida comum anterior ao bulbo carotídeo. O software estima de modo automático a média de 90 medidas (frames) obtidas nos 10 mm de extensão. O desfecho foi a média das médias da ECMIC direita e esquerda conforme preconizado pelo Consenso de Mannheim.[6]

As seguintes variáveis independentes foram avaliadas aos 30 anos:

- Atividade física no lazer e no deslocamento: avaliada pelo questionário internacional de atividade física (IPAQ) em minutos por dia.[30] A OMS considera

ativo quem pratica 150 minutos ou mais de atividade física por semana.[30] Utilizamos esta variável dicotomizada em “sim” para quem pratica atividade física no nível recomendado; “não” para quem não segue a recomendação.

- Consumo diário de frutas, verduras e legumes: a partir do QFA foi mensurado o consumo diário de frutas, verduras e legumes em porções por dia e gramas por dia. A OMS recomenda a ingestão de 400 gramas ou mais de frutas, verduras e legumes por dia.[31] Utilizamos esta variável categorizada em consumo diário em gramas por dia com os seguintes pontos de corte: <100, 100 a 199, 200 a 399, e 400 ou mais.

- Consumo diário de frituras: baseado no Questionário de Frequência Alimentar (QFA) foi estimado o consumo diário de frituras em gramas por dia. Existe recomendação para o não consumo de frituras. Optamos por apresentar esta variável em quintis.

- Tabagismo aos 23 e 30 anos: foram considerados como fumantes, aqueles que relataram ter fumado pelo menos um cigarro por semana. Foram criadas novas categorias de tabagismo com base na informação sobre o hábito de fumar aos 23 anos (coletada no acompanhamento dos 23 anos) e 30 anos (coletada no acompanhamento dos 30 anos). Assim, foram criadas as categorias nunca fumou (respondeu que não fumava aos 23 anos e não fumava aos 30 anos), fumante apenas entre os 23 e 30 anos (respondeu que não fumava aos 23 anos e ex-fumante aos 30 anos), fumante apenas aos 30 anos (respondeu que não fumava aos 23 anos e que fumava aos 30 anos), parou de fumar antes dos 23 anos (respondeu que era ex-fumante aos 23 anos e ex-fumante aos 30 anos), fumante antes de 23 e aos 30 anos (respondeu que era ex-fumante aos 23 anos e fumante aos 30 anos), parou de fumar entre os 23 e 30 anos (respondeu que era fumante aos 23 anos e ex-fumante aos 30 anos), e fumante aos 23 e fumante aos 30 anos (respondeu que era fumante aos 23 anos e fumante aos 30 anos).

- Ingesta de bebidas alcoólicas: foi coletada informação sobre o número de doses por dia e transformado em gramas por dia. A OMS considera baixo risco o uso semanal, de no máximo, 140 gramas para mulheres (20 gramas por dia) e 210 gramas para homens (30 gramas por dia).[32] Optou-se por categorizar como quem não bebe diariamente, bebe menos 30 gramas por dia, e bebe 30,0 gramas ou mais por dia.

- IMC: obtido pela divisão do peso (em kg) pelo quadrado da altura (em metros). A OMS classifica os adultos por faixa de IMC em: baixo peso (menor que 18,5 kg/m<sup>2</sup>), peso adequado (entre 18,5 e 24,9 kg/m<sup>2</sup>), sobrepeso (entre 25,0 e 29,9 kg/m<sup>2</sup>), e obesidade (maior ou igual a 30,0 kg/m<sup>2</sup>).[33]

- Peso: (em kg) aferido com balanças marca TANITA (modelo BC-418 MA), com precisão de 100 gramas.

- Altura: aferida com antropômetro padronizado (SECA 240), precisão 0,1 cm, com o indivíduo com a cabeça no plano de Frankfurt.

- Pressão arterial: média de duas medidas (uma no início dos exames antropométricos e outra no final) da pressão arterial sistólica e diastólica (em mmHg) com esfigmomanômetro automático (modelo HEM-705CPINT) com manguitos de braço (marca Omron) para pessoas de peso normal e para obesos. Segundo o The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7) classificamos a pressão arterial sistólica em normal quando abaixo de 120 mmHg, pré-hipertensão entre 120 e 139 mmHg, e hipertensão quando maior ou igual a 140 mmHg.[15] Enquanto a pressão arterial diastólica é classificada como normal quando abaixo de 80 mmHg, pré-hipertensão entre 80 e 89 mmHg, e hipertensão quando maior ou igual a 90 mmHg.[15]

As seguintes variáveis independentes foram medidas a partir de amostra casual de sangue:



- Glicemia casual: foi dosada por método enzimático colorimétrico automatizado no analisador químico BS-380, Mindray (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China). A OMS considera, para glicemia de jejum, como normal a glicemia <110 mg/dL, glicemia alterada quando entre 110 e 125 mg/dL, diabetes quando maior ou igual a 126 mg/dL (dois testes em dias separados) ou quando glicemia casual maior ou igual a 200 mg/dL.[34] Neste estudo utilizamos os pontos de corte da recomendação da OMS.

- Hemoglobina glicada (HbA1c): foi avaliada em amostra de sangue total coletado em papel de filtro 903 Whatman (Whatman Inc., USA) por meio da técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) associada à cromatografia de troca iônica usando o programa Hemoglobina A1c VARIANT TM II (BIO-RAD, USA). A OMS considera, para hemoglobina glicada, como glicemia normal a hemoglobina glicada <5,7 mg/dL, glicemia alterada (pré-diabetes) entre 5,7 e 6,4 mg/dL, diabetes maior ou igual a 6,5 mg/dL.[34]

- Colesterol total: foi dosado por método enzimático colorimétrico automatizado no analisador químico BS-380, Mindray (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China). Classificamos o nível de colesterol total como normal quando o valor está abaixo de 200 mg/dL, limítrofe entre 200 e 239 mg/dL, e alto quando acima de 240 mg/dL. [35]

- Colesterol LDL: foi dosado por método enzimático colorimétrico automatizado no analisador químico BS-380, Mindray (Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China). Classificamos o nível de colesterol LDL como normal quando abaixo de 100 mg/dL, desejável quando entre 100 e 129 mg/dL, limítrofe entre 130 e 159 mg/dL, alto quando entre 160 e 189 mg/dL e muito alto quando maior ou igual a 190 mg/dL. [35]

- Colesterol HDL: foi dosado por método enzimático colorimétrico automatizado no analisador químico BS-380, Mindray ( Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China). Classificamos o nível de colesterol HDL como baixo quando menor que 40 mg/dL, alto quando maior que 60 mg/dL. [35]

- Triglicerídeos: foi dosado por método enzimático colorimétrico automatizado no analisador químico BS-380, Mindray ( Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd, China). Classificamos o nível de triglicerídeos como normal quando abaixo de 150 mg/dL, limítrofe entre 150 e 199 mg/dL, alto quando entre 200 e 499 mg/dL, e muito alto quando maior ou igual a 500 mg/dL.[35]

A análise dos dados foi realizada utilizando o pacote estatístico Stata 13.0. Na comparação entre as médias utilizou-se a análise de variância e a regressão linear múltipla, para ajuste para fatores de confusão. As seguintes variáveis foram consideradas como possíveis confundidores: renda familiar ao nascer (em salários mínimos), escolaridade materna (em anos completos), cor da pele materna, idade materna no parto, tabagismo materno na gestação, índice de massa corporal (IMC) materno pré-gestacional, sexo, cor da pele, peso ao nascer e duração da amamentação.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas aprovou o protocolo da pesquisa e as entrevistas e exames foram realizados após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido do participante.

## Resultados

No acompanhamento aos 30 anos da Coorte de Pelotas de 1982 foram entrevistados 3701 indivíduos, que somados aos 325 óbitos identificados entre os participantes da coorte, dá uma taxa de acompanhamento de 68,1%. O exame da ECMIC foi realizado em 3380 participantes e foram considerados válidos os resultados de 3188 indivíduos, representando 86,1% dos entrevistados.

A Tabela 1 mostra que a taxa de acompanhamento aos 30 anos foi menor nos homens, naqueles cuja renda familiar ao nascer era maior do que 10 salários mínimos e cuja mãe tinha mais do que 12 anos de estudo, mas as diferenças foram de pequena magnitude. Cor da pele e peso ao nascer apresentaram perdas muito próximas entre as categorias.

Em relação aos fatores de risco comportamentais, a Tabela 2 mostra que ser fumante aos 23 anos e aos 30 anos esteve associado com a ECMIC aos 30 anos, porém, ser fumante apenas aos 30 anos não esteve associado com a espessura da carótida. Ser ativo no lazer (praticar 150 minutos ou mais de atividade física por semana), consumir frituras diariamente e consumir álcool foram positivamente associados com a ECMIC na análise bruta, porém essa associação não foi observada quando se ajustou para potenciais fatores de confusão. Atividade física no lazer e deslocamento maior ou igual a 150 minutos por semana, e o consumo de frutas, verduras e legumes não estiveram associados com a ECMIC.

Para os fatores de risco cardiovasculares metabólicos, a Tabela 3 mostra que o IMC a pressão arterial sistólica e diastólica, a glicemia casual, o colesterol total, o colesterol LDL e os triglicerídeos foram positivamente associados com a ECMIC, mesmo após controle para as possíveis variáveis de confusão. O Colesterol HDL esteve

inversamente associado com a ECMIC após controle para confusão. A hemoglobina glicada não esteve associada com a ECMIC.

## Discussão

Em uma população de adultos jovens que tem sido prospectivamente acompanhados desde o nascimento, se observou que o tabagismo, o índice de massa corporal a pressão arterial sistólica e diastólica, a glicemia casual, o colesterol total, o colesterol LDL e os triglicérides foram positivamente associados com a ECMIC aos 30 anos de idade, enquanto que para o colesterol HDL a relação foi inversa.

A alta taxa de acompanhamento e a pequena diferença na proporção de perdas entre os grupos socioeconômicos faz com que a probabilidade de ocorrência de viés de seleção seja baixa. Os fatores de confusão relativos a variáveis da gravidez e da infância foram mensurados próximo ao momento de sua ocorrência, garantindo maior precisão na sua medida e reduzindo a ocorrência de confundimento residual.

A coleta das imagens de US seguiu a padronização recomendada pelo Consenso de Mannheim.[6] A padronização da coleta da ECMIC é importante para permitir a comparabilidade entre os estudos, o Consenso recomenda que seja avaliada a média da espessura da carótida comum direita e esquerda.[6] No entanto, alguns estudos não seguiram esta recomendação, coletando a medida de apenas uma das carótidas. Valores mais elevados tem sido relatados no lado esquerdo.[6] Além disso, alguns estudos optaram por selecionar o ponto mais espesso da artéria carótida, porém valores de máximo espessamento podem refletir estágios mais avançados de espessamento focal ou placas de aterosclerose. [6] Além do mais, existem estudos que realizam a medida em outros segmentos da artéria carótida, que não a carótida comum. Todas essas diferenças podem produzir medidas diferentes de acordo com o local da coleta e assim aumentam a probabilidade de introduzir erros.[6]

Em relação a análise das imagens, pode-se realizar a leitura pelo método manual ou automático, este estudo utilizou a leitura da medida da ECMIC pelo modo automático. Isto permitiu realizar várias medidas repetidas de um mesmo segmento da artéria carótida, fornecendo estimativa através da média do segmento.[6, 36] Valores médios são menos suscetíveis a erros de coleta. Ocorre que existem estudos que analisam a imagem pelo método manual, o que pode causar maior risco de erro de medida, porque US é um exame operador dependente e com isto pode subestimar a medida de associação.

As perdas de exame da carótida aconteceram devido a não aceitação em participar da coleta do exame de US, mas aceite para participação na entrevista. Também ocorreram perdas por baixa qualidade das imagens coletadas, porque o US é um exame examinador-dependente, ou seja, depende da experiência do examinador para conseguir qualidade na coleta do exame. Neste estudo foram treinadas quatro técnicas de radiologia, sendo selecionadas as duas com resultados melhores comparados com o padrão-ouro, que foi um técnico previamente treinado em outro estudo nacional. Mesmo com as dificuldades relatadas, ao final do acompanhamento foram considerados válidos resultados de média da ECMIC da artéria carótida esquerda de 3012 indivíduos e da carótida direita de 2924 indivíduos, sendo considerado um bom número.

Para os fatores de risco cardiovasculares comportamentais, embora a literatura mostre que a ECMIC é positivamente associada com o tabagismo, o consumo de álcool, o sedentarismo e a alimentação não saudável, o presente estudo ao controlar para variáveis de confusão não encontrou associação aos 30 anos. Isto pode ser devido a ECMIC ter sido avaliada em adultos jovens, que ainda não apresentaram tempo suficiente de exposição a esses fatores para apresentar alterações na espessura do complexo médio-intimal carotídeos nessa idade. O viés de causalidade reversa é outra

possível explicação para esta ausência de associação, uma vez que indivíduos identificados como de maior risco cardiovascular podem ter recebido orientação de profissionais de saúde para realizarem mudanças no estilo de vida, que inclui alteração no padrão alimentar, orientação para a prática de atividade física, diminuição ou cessação do tabagismo e da ingestão de álcool. Então, essa mudança de comportamento pode ter influenciado na medida da espessura da carótida aos 30 anos.

Para tentar contornar o aspecto transversal da análise avaliou-se o consumo de tabaco coletado do acompanhamento dos 23 anos juntamente com o consumo de tabaco do acompanhamento dos 30 anos, e se verificou que os indivíduos que eram fumantes aos 23 anos e também eram fumantes aos 30 anos apresentaram uma ECMIC significativamente maior do que aqueles que nunca foram fumantes aos 30 anos, demonstrando assim a importância da análise longitudinal dos dados.

Em relação aos fatores de risco cardiovasculares metabólicos,[15-19] mesmo na análise transversal dos dados, esses fatores estiveram associadas positivamente com a ECMIC aos 30 anos. Sugerindo que a ausência de associação com os fatores comportamentais pode ser devido ao tempo insuficiente de exposição aos fatores de risco, conforme a análise do tabagismo demonstrou.

Mesmo tendo avaliado uma população de adultos jovens, o presente estudo já observou que os principais fatores de risco cardiovascular metabólicos como o sobrepeso e a obesidade, o aumento da pressão arterial, o aumento da glicemia casual, o aumento dos lipídeos sanguíneos e o baixo colesterol HDL e o tabagismo já estão associados com o aumento da espessura do complexo médio intimal carotídeo, um marcador precoce de aterosclerose. Estes achados reforçam a importância do controle precoce destes fatores de risco, principalmente a partir da adoção de comportamentos

saudáveis[1, 2] como evitar o tabaco, ter dieta saudável e praticar atividade física, que estão associados a diminuição nos fatores de risco metabólicos. [1, 2]



**Tabela 1.** Distribuição das características da população original da Coorte de Nascidos Vivos de 1982, Pelotas/RS, das entrevistas e medidas da ECMIC no acompanhamento de 2012.

Variável	Acompanhados em 2012 (%) *	% dos entrevistados em 2012 com informação válida sobre a ECMIC
Sexo		
Masculino	65,2	88,7
Feminino	71,1	83,8
Cor da pele materna		
Branca	67,6	86,2
Não-branca	70,6	85,8
Peso ao nascer (gramas)		
< 2500	72,1	83,5
2500 - 2999	69,1	83,1
3000 - 3499	66,0	87,4
≥ 3500	68,6	87,6
Renda familiar em salários mínimos ao nascimento		
≤ 1,0	66,1	86,0
1,1 - 3,0	70,4	85,8
3,1 - 6,0	69,3	86,4
6,1 - 10	61,3	87,8
> 10	60,3	87,7
Escolaridade materna (anos)		
0 - 4	68,0	85,8
5 - 8	70,5	85,6
9 - 11	66,1	88,6

$\geq 12$	62,8	86,7
Total	68,1	86,1

\* Os indivíduos que faleceram foram considerados como tendo sido acompanhados.

**Tabela 2.** Análise bruta e ajustada da ECMIC em relação aos fatores de risco cardiovasculares comportamentais na amostra da população da Coorte de Nascidos Vivos de 1982, Pelotas/RS, no acompanhamento de 2012.

Variável		ECMIC	Análise Bruta	Análise Ajustada*
	N	$\mu$ m	$\beta$ (IC 95%)	$\beta$ (IC 95%)
Ativo no lazer (maior ou igual a 150 minutos por semana)				
Não	2199	581,88	Ref (0)	Ref (0)
Sim	932	583,41	1,52 (0,98; 2,94)	-0,35 (-1,88; 1,18)
Ativo no lazer e deslocamento (maior ou igual a 150 minutos por semana)				
Não	1398	581,92	Ref (0)	Ref (0)
Sim	1732	582,68	0,76 (-0,55; 2,07)	-0,20 (-1,55; 1,15)
Frutas, verduras e legumes em gramas por dia				
< 100	787	582,08	Ref (0)	Ref (0)
100 a 199	825	581,94	-0,14 (-1,96; 1,68)	0,15 (-1,77; 2,07)
200 a 399	880	582,43	0,35 (-1,44; 2,14)	1,39 (-0,50; 3,28)
400 ou mais	664	583,15	1,07 (-0,85; 3,00)	1,26 (-0,80; 3,32)
Consumo de fritura diária (quintis)				
Primeiro (menor consumo)	780	580,59	Ref (0)	Ref (0)
Segundo	480	581,80	1,21 (-0,90; 3,32)	0,10 (-2,15; 2,36)
Terceiro	635	582,69	2,10 (0,15; 4,05)	1,12 (-0,94; 3,17)
Quarto	617	582,71	2,13 (0,16; 4,09)	0,92 (-1,16; 3,00)
Quinto (maior consumo)	643	584,31	3,73 (1,79; 5,67)	1,60 (-0,50; 3,71)
Fumo aos 23 anos e 30 anos				
Nunca fumou	1674	581,68	Ref (0)	Ref (0)
Fumante apenas entre os 23 e 30	179	581,90	0,22 (-2,70; 3,15)	0,19 (-2,80; 3,18)

anos				
Fumante apenas aos 30 anos	92	581,17	-0,51 (-4,49; 3,47)	0,34 (-3,75; 4,43)
Parou de fumar antes dos 23 anos	151	582,74	1,07 (-2,09; 4,23)	1,93 (-1,34; 5,20)
Fumante antes dos 23 e aos 30 anos	84	582,44	0,77 (-3,39; 4,92)	-0,44 (-4,87; 3,98)
Parou de fumar entre os 23 e 30 anos	185	582,91	1,24 (-1,64; 4,12)	2,67 (-0,37; 5,71)
Fumante aos 23 anos e fumante aos 30 anos	509	585,39	3,71 (1,83; 5,60)	2,12 (0,07; 4,16)
Consumo diário de álcool (gramas por dia)				
Zero	1154	580,82	Ref (0)	Ref (0)
0,01 a 29,99	1928	583,03	2,20 (0,85; 3,56)	0,78 (-0,69; 2,24)
30,00 ou mais (abuso)	73	589,30	8,47 (4,08; 12,86)	0,93 (-3,72; 5,58)

\*Ajuste para fatores de confusão: renda familiar ao nascimento, cor da mãe, idade materna no parto, escolaridade da mãe, fumo materno, IMC pré-gestacional da mãe, peso ao nascer, sexo, cor, amamentação.

**Tabela 3.** Análise bruta e ajustada da ECMIC em relação aos fatores de risco cardiovasculares metabólicos na amostra da população da Coorte de Nascidos Vivos de 1982, Pelotas/RS, no acompanhamento de 2012.

Variável		ECMIC	Análise Bruta	Análise Ajustada*
	N	µm	β (IC 95%)	β (IC 95%)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )				
<18,5	59	574,97	-2,64 (-7,36; 2,09)	-2,90 (-8,40; 2,59)
18,5 a 24,9	1285	577,61	Ref (0)	Ref (0)
25,0 a 29,9	1093	584,21	6,60 (5,14; 8,06)	5,66 (4,09; 7,22)
≥30	687	589,24	11,64 (9,96; 13,3)	10,39 (8,56; 12,23)
PA sistólica (mmHg)				
Normal (<120)	1571	578,77	Ref (0)	Ref (0)
Pré-hipertensão (120-139)	1315	584,92	6,15 (4,82; 7,49)	4,56 (3,00; 6,12)
Hipertensão (≥140)	284	590,54	11,78 (9,48; 14,08)	8,57 (6,00; 11,18)
PA diastólica (mmHg)				
Normal (<80)	2275	580,73	Ref (0)	Ref (0)
Pré-hipertensão (80-89)	686	584,98	4,26 (2,69; 5,82)	3,07 (1,42; 4,73)
Hipertensão (≥90)	209	591,77	11,04 (8,45; 13,46)	7,78 (5,01; 10,54)
Glicemia casual (mg/dL)				
<110	2853	582,01	Ref (0)	Ref (0)
110 – 125	140	585,56	3,54 (0,39; 6,70)	2,19 (-1,17; 5,56)
126 – 199	88	587,74	5,72 (1,78; 9,67)	3,84 (-0,39; 8,08)
≥200	17	596,33	14,31 (5,45; 23,17)	11,36 (1,80; 20,91)
Hemoglobina glicada (mg/dL)				
< 5,7	2851	582,43	Ref (0)	Ref (0)
5,7 – 6,4	228	582,04	-0,39 (-2,90; 2,13)	0,19 (-2,48; 2,87)
≥ 6,5	29	584,04	1,61 (-5,21; 8,43)	0,69 (-6,52; 7,91)
Colesterol total (mg/dL)				
< 200	1962	580,72	Ref (0)	Ref (0)

200 – 239	843	584,79	4,07 (2,60; 5,57)	4,61 (3,04; 6,17)
≥ 240	293	586,91	6,19 (3,92; 8,46)	5,87 (3,47; 8,26)
Colesterol HDL (mg/dL)				
<40	211	588,29	Ref (0)	Ref (0)
40 – 60	1487	584,36	-3,93 (-6,58; -1,27)	-2,64 (-5,53; 0,25)
≥ 60	1400	579,46	-8,82 (-11,49; -6,16)	-6,73 (-9,70; -3,76)
Colesterol LDL (mg/dL)				
< 100	1247	579,57	Ref (0)	Ref (0)
100 – 129	1149	582,98	3,41 (1,94; 4,89)	3,50 (1,94; 5,07)
130 – 159	541	585,63	6,06 (4,21; 7,92)	6,38 (4,42; 8,34)
160 – 189	131	586,44	6,87 (3,56; 10,18)	7,14 (3,67; 10,60)
≥ 190	30	603,28	23,71 (17,05; 30,37)	18,54 (11,37; 25,71)
Triglicérides (mg/dL)				
< 150	2401	581,18	Ref (0)	Ref (0)
150 – 199	320	583,40	2,23 (0,08; 4,38)	2,25 (0,03; 4,46)
200 – 499	353	588,72	7,55 (5,49; 9,61)	5,61 (3,38; 7,84)
≥ 500	24	600,03	18,86 (11,45; 26,26)	17,01 (8,89; 25,13)

\*Ajuste para fatores de confusão: renda familiar ao nascimento, cor da mãe, idade materna no parto, escolaridade da mãe, fumo materno, IMC pré-gestacional da mãe, peso ao nascer, sexo, cor, amamentação.

## Referências:

1. WHO. Global Status Report on noncommunicable diseases 2014. [Online] World Health Organization. Geneva. 2015:298.
2. Mendis S, Puska P, Norrving B, World Health Organization., World Heart Federation., et al. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva: World Health Organization in collaboration with the World Heart Federation and the World Stroke Organization; 2011. vi, 155 p. p.
3. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, et al. Carotid-Artery Intima and Media Thickness as a Risk Factor for Myocardial Infarction and Stroke in Older Adults. *New England Journal of Medicine*. 1999;340(1):14-22.
4. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74(6):1399-406.
5. Amato M, Montorsi P, Ravani A, Oldani E, Galli S, et al. Carotid intima-media thickness by B-mode ultrasound as surrogate of coronary atherosclerosis: correlation with quantitative coronary angiography and coronary intravascular ultrasound findings. *European Heart Journal*. 2007;28(17):2094-101.
6. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, et al. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovascular Diseases*. 2012;34(4):290-6.

7. Howard G, Burke GL, Szklo M, et al. Active and passive smoking are associated with increased carotid wall thickness: The atherosclerosis risk in communities study. *Archives of Internal Medicine*. 1994;154(11):1277-82.
8. Raitakari O, Juonala M, Kähönen M, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: The cardiovascular risk in young finns study. *JAMA*. 2003;290(17):2277-83.
9. Meyer AA, Kundt G, Lenschow U, Schuff-Werner P, Kienast W. Improvement of Early Vascular Changes and Cardiovascular Risk Factors in Obese Children After a Six-Month Exercise Program. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;48(9):1865-70.
10. Nordstrom CK, Dwyer KM, Merz CNB, Shircore A, Dwyer JH. Leisure time physical activity and early atherosclerosis: the Los Angeles Atherosclerosis Study. *The American Journal of Medicine*. 2003;115(1):19-25.
11. Juonala M, Viikari JSA, Kähönen M, Laitinen T, Taittonen L, et al. Alcohol consumption is directly associated with carotid intima–media thickness in Finnish young adults: The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Atherosclerosis*. 2009;204(2):e93-e8.
12. Zyriax BC, Lau K, Klahn T, Boeing H, Volzke H, et al. Association between alcohol consumption and carotid intima-media thickness in a healthy population: data of the STRATEGY study (Stress, Atherosclerosis and ECG Study). *Eur J Clin Nutr*. 2010;64(10):1199-206.



13. Murie-Fernandez M, Irimia P, Toledo E, Martínez-Vila E, Buil-Cosiales P, et al. Carotid intima-media thickness changes with Mediterranean diet: A randomized trial (PREDIMED-Navarra). *Atherosclerosis*. 2011;219(1):158-62.
14. Mente A, de Koning L, Shannon HS, Anand SS. A systematic review of the evidence supporting a causal link between dietary factors and coronary heart disease. *Archives of Internal Medicine*. 2009;169(7):659-69.
15. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, et al. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003;42(6):1206-52.
16. Pauletto P, Palatini P, Da Ros S, Pagliara V, Santipolo N, et al. Factors Underlying the Increase in Carotid Intima-Media Thickness in Borderline Hypertensives. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 1999;19(5):1231-7.
17. Toikka JO, Laine H, Ahotupa M, Haapanen A, Viikari JSA, et al. Increased Arterial Intima-Media Thickness and In Vivo LDL Oxidation in Young Men With Borderline Hypertension. *Hypertension*. 2000;36(6):929-33.
18. Di Bello V, Carerj S, Perticone F, Benedetto F, Palombo C, et al. Carotid Intima-Media Thickness in Asymptomatic Patients With Arterial Hypertension Without Clinical Cardiovascular Disease: Relation With Left Ventricular Geometry and Mass and Coexisting Risk Factors. *Angiology*. 2009;60(6):705-13.
19. Davis PH, Dawson JD, Riley WA, Lauer RM. Carotid Intimal-Medial Thickness Is Related to Cardiovascular Risk Factors Measured From Childhood Through Middle Age. *Circulation*. 2001;104(23):2815-9.

20. Brohall G, Odén A, Fagerberg B. Carotid artery intima-media thickness in patients with Type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance: a systematic review. *Diabetic Medicine*. 2006;23(6):609-16.
21. Brohall G, Schmidt C, Behre CJ, Hulthe J, Wikstrand J, et al. Association between impaired glucose tolerance and carotid atherosclerosis: A study in 64-year-old women and a meta-analysis. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD*. 2009;19(5):327-33.
22. Lewington S, Whitlock G, Clarke R, Sherliker P, Emberson J, et al. Blood cholesterol and vascular mortality by age, sex, and blood pressure: a meta-analysis of individual data from 61 prospective studies with 55 000 vascular deaths. *The Lancet*. 2007;370(9602):1829-39.
23. Fan AZ, Dwyer JH. Sex differences in the relation of HDL cholesterol to progression of carotid intima-media thickness: The Los Angeles Atherosclerosis Study. *Atherosclerosis*. 2007;195(1):e191-e6.
24. Labreuche J, Touboul P-J, Amarenco P. Plasma triglyceride levels and risk of stroke and carotid atherosclerosis: A systematic review of the epidemiological studies. *Atherosclerosis*. 2009;203(2):331-45.
25. Pizzi J, Silva LRd, Moser D, Leite N. Relação entre aterosclerose subclínica, pressão arterial e perfil lipídico em crianças e adolescentes obesos: uma revisão sistemática. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*. 2013;57:1-6.
26. De Michele M, Panico S, Iannuzzi A, Celentano E, Ciardullo AV, et al. Association of Obesity and Central Fat Distribution With Carotid Artery Wall Thickening in Middle-Aged Women. *Stroke*. 2002;33(12):2923-8.

27. Barros FC, Victora CG, Horta BL, Gigante DP. Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004-5, Pelotas, RS. *Revista de Saúde Pública*. 2008;42:7-15.
28. Victora CG, Barros FC. Cohort Profile: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology*. 2006;35(2):237-42.
29. Horta BL, Gigante DP, Gonçalves H, dos Santos Motta J, Loret de Mola C, et al. Cohort Profile Update: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *International Journal of Epidemiology*. 2015.
30. WHO. *Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health*. Geneva. World Health Organization. 2010.
31. WHO. *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation*. Geneva, World Health Organization, 2003 (WHO Technical Report Series, No. 916). 2003.
32. WHO. *Global strategy to reduce the harmful use of alcohol*. World Health Organization. Geneva. 2010.
33. World Health Organization: Expert Committee. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry*. Technical Report Series, 854. Geneva: WHO: 1995.
34. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 1998;15(7):539-53. Epub 1998/08/01.
35. Expert Panel on D, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in A. *EXecutive summary of the third report of the national cholesterol education program*

(ncep) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel iii). JAMA. 2001;285(19):2486-97.

36. Bots ML, Sutton-Tyrrell K. Lessons From the Past and Promises for the Future for Carotid Intima-Media Thickness. Journal of the American College of Cardiology. 2012;60(17):1599-604.

## **Matéria para imprensa**

Em 2012, foi realizado um estudo no Centro de Pesquisas Epidemiológicas da Universidade Federal de Pelotas (RS) que mediu por ultrassom a espessura da artéria carótida (do pescoço) em 3380 participantes da coorte de nascimentos de 1982.

Este estudo avaliou as relações entre a espessura da artéria carótida, que é um indicador do processo de aterosclerose (espécie de envelhecimento da artéria) e que está fortemente associado às doenças cardiovasculares. O estudo dos fatores associados ao aumento da espessura da carótida possibilita a identificação de fatores associados ao desenvolvimento precoce da aterosclerose.

No estudo foi comparada a espessura da artéria carótida aos 30 anos com as condições de nascimento, crescimento na infância, amamentação e fatores de risco cardiovasculares metabólicos (dosagem no sangue de glicose, triglicerídeos, colesterol-HDL, colesterol-LDL, colesterol-total, avaliação do índice de massa corporal e da pressão arterial) e comportamentais (dieta, sedentarismo, tabagismo e ingestão de bebidas alcoólicas) na Coorte de Nascimentos de 1982 de Pelotas, RS.

A espessura da carótida aos 30 anos foi associada com o peso/idade aos dois anos, peso/altura aos quatro anos, altura/idade aos quatro anos, peso/idade aos quatro anos e o ganho de peso condicional dos dois aos quatro anos. Além disso, o consumo de cigarro, o índice de massa corporal (peso/altura ao quadrado), a pressão arterial, a glicose do sangue e os lipídeos também estiveram associados com a espessura da carótida.

Dessa forma, mesmo tendo avaliado uma população de adultos jovens, o presente estudo já observou que os principais fatores de risco cardiovascular como o sobrepeso e a obesidade, o aumento da pressão arterial, o aumento da glicose do sangue, o aumento dos lipídeos sanguíneos e o baixo colesterol HDL e o tabagismo já estão associados com o aumento da espessura da carótida. Estes achados reforçam a importância do controle precoce destes fatores de risco, principalmente a partir da adoção de comportamentos

saudáveis como evitar o cigarro, ter dieta saudável e praticar atividade física, que estão associados à diminuição nos fatores de risco cardiovasculares.

## **Conclusões Gerais**

A meta-análise entre a espessura do complexo médio-intimal carotídeo (ECMIC) e amamentação não encontrou associação significativa. Porém, os estudos com grupos de comparação de nunca amamentados (contra maior categoria de duração de amamentação) relataram maior proteção da amamentação em relação aos estudos que utilizaram grupo de comparação de menor tempo de amamentação (contra maior categoria de tempo de amamentação).

A ECMIC aos 30 anos, na coorte de Pelotas de 1982, foi positivamente associada com as medidas antropométricas aos dois anos com o peso-idade e peso-altura em escore z, aos quatro anos com altura-idade, peso-idade e peso-altura em escore z, e com o ganho de peso condicional dos dois aos quatro anos.

O consumo de tabaco e os fatores metabólicos de risco cardiovascular (índice de massa corporal, pressão arterial, glicemia e lipídeos) estiveram positivamente associados com a ECMIC aos 30 anos, na coorte de Pelotas de 1982.

## Anexos:



Investigadores responsáveis: Prof. Dr. Bernardo Lessa Horta,  
Prof. Dra. Denise Petrucci Gigante e Prof. Dra. Helen Gonçalves

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado jovem,

O Centro de Pesquisas em Saúde da Faculdade de Medicina (Universidade Federal de Pelotas) vem acompanhando há anos os nascidos em 1982, na cidade de Pelotas. Seguindo esse trabalho, voltamos a procurar todos os participantes agora em 2012. O objetivo desta visita é avaliar as condições de saúde aos 30 anos e outros aspectos como, por exemplo, trabalho, renda, composição familiar e escolaridade.

**Procedimentos:** Para que possamos avaliar corretamente a tua saúde, algumas medidas e exames serão necessários, além de responderes algumas questões. Um dos questionários possui perguntas mais íntimas, mas o teu nome não aparecerá nele e tu responderás sozinho (a). Serão realizadas medidas de peso, altura, dobras da pele e do músculo do polegar (para avaliar gordura e massa muscular) e circunferência da cintura, conforme já feito em outras visitas. Também serão realizadas medidas de avaliação da força muscular (utilizando um aparelho chamado dinamômetro), capacidade dos pulmões, da pressão arterial, acelerometria (para avaliação da atividade física), ultrassom abdominal (para avaliar quantidade de gordura no abdômen) e ultrassom de uma artéria do pescoço, a carótida e de uma artéria da região da virilha, a femoral, para avaliar o fluxo de sangue e espessura destas.

Será feita coleta de sangue (com material estéril e descartável), por pessoa treinada, a fim de analisar a glicemia (açúcar no sangue), perfil lipídico (gorduras no sangue), proteína C-Reativa (processo inflamatório) e DNA. A extração de DNA e posterior análise identificarão características genéticas associadas ao crescimento e a saúde. Esse é um exame que poderá ser realizado em laboratório fora do Brasil. Esta análise será demorada e não esperamos ter resultados antes de alguns anos. Qualquer análise no DNA que não esteja definida no projeto original desta pesquisa será realizada somente mediante a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, não havendo necessidade de novo consentimento teu a cada análise desse material. Se necessário, serás contatado por nós para receberes algum aconselhamento de saúde.

Para avaliação da composição corporal serão usados equipamentos modernos: DXA (que mede a saúde dos ossos), Bod Pod (que mede o volume do corpo) e foto tridimensional (que avalia as medidas do corpo). Para esses exames, tu terás que trajar roupa e touca de banho, que serão fornecidas pelo estudo.

(LER PARA MULHERES) Só poderemos fazer os exames de composição corporal se tu não estiveres grávida. Tu estás grávida? ( ) Sim ( ) Não

**Benefícios:** as informações coletadas de todos os jovens serão usadas para ajudar na prevenção de doenças comuns como diabetes, doenças do coração, tumores, entre outras e para compreender como está à saúde de nossos participantes.

**Instituição responsável:** Centro de Pesquisas Epidemiológicas / Centro de Pesquisas em Saúde Dr. Amílcar Gigante  
Rua Marechal Deodoro, 1160, 3º andar, Telefone: 3284 1315

Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido do acompanhamento dos 30 anos do estudo da coorte de 1982 de Pelotas.





## COORTE DE NASCIMENTO DE 1982 – PELOTAS

Visita 30 anos

**Riscos e possíveis reações:** Nenhum dos aparelhos e exames que avaliam a composição corporal é invasivo ou te causará qualquer dor ou desconforto. Na coleta de sangue sentirás uma picada leve.

Na avaliação da função pulmonar, devido a teres que tomar um medicamento, poderás ter palpitações e tremores. Salientamos que receberás atenção especial de um profissional de saúde caso sintas algo durante qualquer procedimento – algo muito incomum.

**Confidencialidade:** É importante esclarecer que todas as tuas informações são confidenciais, sendo apenas identificadas por um número de uso exclusivo desta pesquisa e serão guardadas em segurança. Só terão acesso a elas, mas sem tua identificação como nome e endereço, os pesquisadores do estudo.

**Participação voluntária:** A tua participação deverá ser inteiramente voluntária e poderás te recusar a participar ou deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem qualquer problema, prejuízo ou discriminação no futuro.

**Despesas:** Não há nenhum gasto, despesa, nem qualquer outra responsabilidade para participares do estudo. Apenas pedimos que respondas às perguntas dos questionários com toda sinceridade.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Pelotas. Tu ficarás com uma cópia deste documento com o nosso telefone e endereço, podendo nos procurar para tirar tuas dúvidas sobre o estudo e a tua participação em qualquer momento. Tua assinatura a seguir significa que entendeste todas as informações e concordas em participar.

Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / 2012

Assinalar abaixo os procedimentos que concordas em fazer:

- Questionários
- Antropometria/medidas (peso, altura, força muscular, dobras da pele e circunferência da cintura)
- Saúde dos ossos
- Volume do corpo
- Medidas do corpo – foto 3D
- Coleta de sangue
- Pressão arterial
- Capacidade dos pulmões (espirometria)
- Ultrassom da carótida, femoral e abdominal
- Acelerometria (atividade física)

**Instituição responsável: Centro de Pesquisas Epidemiológicas / Centro de Pesquisas em Saúde Dr. Amílcar Gigante**  
**Rua Marechal Deodoro, 1160, 3º andar, Telefone: 3284 1315**

Anexo 1. Termo de consentimento livre e esclarecido do acompanhamento dos 30 anos do estudo da coorte de 1982 de Pelotas.(continuação)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
FACULDADE DE MEDICINA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

---

OF. 16/12

Pelotas, 08 de março 2012.

Ilma Srª

Proª Denise Petrucci Gigante

*Projeto: Acompanhamento aos 30 anos de idade dos adultos jovens pertencentes à coorte de nascimentos de 1982: influências precoces e contemporâneas sobre a composição corporal, capital humano, saúde mental e precursores de doenças crônicas complexas. Pelotas, RS*

Prezada Pesquisadora;

Vimos, por meio deste, informá-lo que o projeto supracitado foi analisado e **APROVADO** por esse Comitê, quanto às questões éticas e metodológicas, de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Patricia Abrantes Duval  
Coordenadora do CEP/FAMED/UFPEL



Anexo 2. Aprovação do comitê de ética do acompanhamento dos 30 anos do estudo da coorte de 1982 de Pelotas.

ULTRASSONOGRAFIA

# MANUAL TÉCNICO CARÓTIDAS

Centro de Pesquisas Epidemiológicas  
UFPEL



Anexo 3. Manual técnico de coleta das imagens de ultrassom das carótidas

## **Ultrassonografia da Carótida - Sumário do protocolo de exame**

1. Introdução ao Protocolo de Ultrassonografia da Carótida
2. Posição do Indivíduo Participante
3. Segmentos Anatômicos de Interesse
4. Exame Inicial
5. Protocolo de Documentação
6. Critérios de Imagens Satisfatórias
7. Prioridades na Documentação
8. Imagem Satisfatória de Ultrassonografia da Carótida

### **1. Introdução ao Protocolo de Ultrassonografia da Carótida – EMI**

As carótidas cervicais são as artérias de maior calibre da região cervical. A carótida comum direita (CCD) se origina na artéria inominada e a carótida comum esquerda (CCE) se origina diretamente no arco aórtico. As carótidas cervicais têm trajeto ascendente, lateral e posterior à traquéia. No plano da cartilagem tireóide, discretamente abaixo do ângulo da mandíbula, a carótida comum se bifurca em carótidas externa e interna. Proximal à bifurcação, a carótida comum direita se dilata para formar o bulbo carotídeo. A origem do bulbo pode ser reconhecida na maior parte dos indivíduos. É definida como o local de início da dilatação da carótida e de curvatura das paredes do vaso no sentido lateral, deixando de ser paralelas à superfície cutânea. O bulbo apresenta morfologia elíptica e geometria complexa no eixo longitudinal. O seu limite cranial é definido como ponto de divisão do fluxo. A ponta do divisor de fluxo também é referência anatômica da origem das carótidas interna e externa. A carótida externa tem trajeto anterior e discretamente medial ao da carótida interna em 90% dos indivíduos. Os 10% restantes apresentam orientação inversa. A carótida externa geralmente tem calibre menor do que a interna e possui ramos que suprem o pescoço e a face. A carótida interna não possui ramos cervicais e tem trajeto ascendente para o cérebro.

### **2. Posição do Participante**

O indivíduo é posicionado em decúbito dorsal durante o exame das carótidas, de modo a possibilitar movimentos de rotação da sua cabeça para os lados.

A seguir, o examinador se coloca sentado ou em pé ao lado do divã, próximo à cabeça do indivíduo. A mesma é colocada a 45° na direção oposta ao lado examinado. Os indivíduos devem ser orientados a não virar a cabeça para olhar a tela do monitor do equipamento. O posicionamento da cabeça do indivíduo será feito pelo sonografista no início do estudo, enquanto solicita ao mesmo que não se movimente no decorrer do exame.

Iniciar o estudo pelo lado esquerdo.

Anexo 3. Manual técnico de coleta das imagens de ultrassom das carótidas.  
(continuação)

### 3. Segmentos Anatômicos de Interesse

As carótidas serão avaliadas bilateralmente, no segmento distal da carótida comum.

Não serão feitas das carótidas externa e interna.

- Carótida comum distal é o segmento da carótida comum imediatamente proximal à origem do bulbo carotídeo, local em que as paredes proximal e distal são paralelas entre si. O final da carótida comum é demarcado pela dilatação das paredes do vaso, formando o bulbo carotídeo.

### 4. Exame Inicial (clip)

O sonografista deve fazer a varredura no eixo transversal, iniciando no plano da bifurcação carotídea (no plano do ângulo da mandíbula), incluindo o bulbo carotídeo e terminando no segmento distal da carótida comum. O objetivo do exame inicial é orientar o sonografista em relação ao trajeto anatômico dos segmentos de interesse do território carotídeo do indivíduo.

### 5. Protocolo de Documentação

Sumário do Protocolo de Exame:

- a) uma seqüência de varreduras no eixo transversal com a duração de 8 segundos;
- b) Em seguida a imagem da carótida comum distal será feita no eixo longitudinal a partir do início do bulbo, sendo gravada de modo dinâmico.

A imagem da carótida comum distal será obtida com profundidade de 4 cm, pré-estabelecida no "preset" do equipamento, devendo ser mantida constante no decorrer do exame, de ambos os lados. O leitor assumirá que a magnificação permaneceu constante.

Em resumo, o sonografista grava :

1. Clip da varredura transversal da carótida comum, no eixo transversal, a partir da bifurcação carotídea até a carótida comum distal, incluindo o bulbo, com a duração de 8 segundos.
2. Clip da imagem da carótida comum distal no eixo longitudinal

#### Resumo da Seqüência de imagens Gravadas

DESCRIÇÃO DA IMAGEM	GRAVAÇÃO
<i>Padrão do zoom = 4 cm ("depth")</i>	
1. Varredura Transversal	8 segundos "varredura em tempo real"
<i>Magnificação "OFF"</i>	
2. Carótida Comum Distal - parede posterior	5 segundos "varredura em tempo real"

Anexo 3. Manual técnico de coleta das imagens de ultrassom das carótidas.  
(continuação)

#### 5,1 Clip 1: Varredura Transversal (Menor-Eixo)

Varredura transversal da carótida comum, no eixo transversal, a partir da bifurcação carotídea até a carótida comum distal, incluindo o bulbo, com a duração de 8 segundos. A varredura deve ser feita com profundidade fixa de 4cm.

#### 5,2 Clip 2: Varredura Longitudinal (Maior-Eixo)

Tomada dinâmica da carótida comum no eixo longitudinal. O bulbo carotídeo deve estar à esquerda do monitor (ao olhar para a tela de frente). Se o bulbo não for identificado, a ponta do divisor de fluxo pode ser utilizada como reparo anatômico. Após localizar a ponta do divisor de fluxo e centralizar a sua imagem na tela, o transdutor deve ser deslocado para o plano lateral do pescoço e movido caudalmente. Em seguida, o transdutor é centrado no segmento distal da carótida comum, justa-bulbar, a 1cm do bulbo. O transdutor deve ser angulado cerca de 45 graus para que a melhor imagem da camada média-íntima da carótida comum, na parede posterior, seja obtida, pois, em geral, este é o melhor ângulo de incidência para a obtenção de uma imagem ótima da carótida comum.

### 6. Critérios de Imagens Satisfatórias

O critério para imagens satisfatórias de ultra-sonografia em modo-B das carótidas é definido como a visualização nítida das interfaces das paredes arteriais no eixo longitudinal e dos reparos anatômicos arteriais.

Parede distal – parede arterial mais afastada do transdutor

Interface lúmen - íntima

Interface média - adventícia

A área de interesse será posicionada no centro da imagem. Alinhe o transdutor para mostrar o máximo possível do vaso no eixo crânio-caudal. O sonografista deve otimizar a visualização das interfaces arteriais por meio do ajuste do ganho, da direção do feixe sonoro e do posicionamento do transdutor.

Com o objetivo de obter uma imagem nítida da camada íntima da carótida comum, o ajuste de ganho precisa ser alto, em relação aos estudos clínicos convencionais. Assim, espera-se que uma imagem ultrassonográfica satisfatória do lúmen das carótidas contenha uma quantidade mínima de artefatos.

Imagens satisfatórias são obtidas em profundidade padronizada, devendo, em princípio, ser mantida inalterada em todas as tomadas longitudinais. Se a profundidade for alterada no decorrer do exame, por restrições relativas ao biótipo do participante, este problema deve ser relatado na seção "Comentários" da Ficha de Resumo.

Anexo 3. Manual técnico de coleta das imagens de ultrassom das carótidas.  
(continuação)

## 7. Prioridades na Documentação

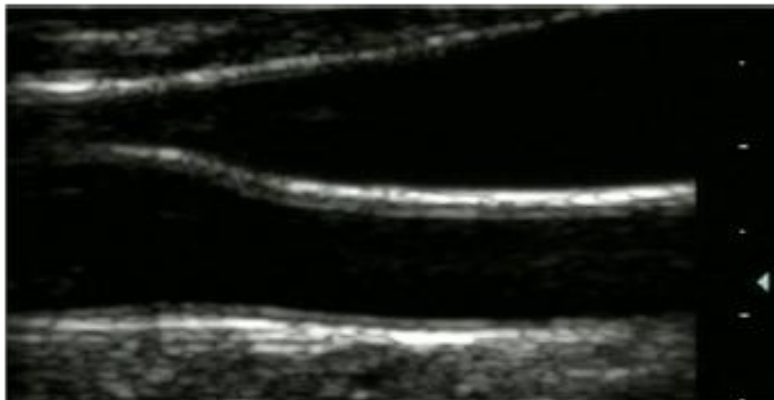
A imagem a ser priorizada pelo sonografista é aquela das camadas anatômicas da parede distal da carótida comum. Nos casos em que houver doença aterosclerótica, uma imagem de boa qualidade das lesões deverá ser incluída na gravação do estudo.

## 8. A satisfatória de USG da Carótida Comum

As camadas das paredes carotídeas podem ser demonstradas por meio das imagens de ultra-sonografia de alta resolução. Nos cortes longitudinais das carótidas, estas camadas são visualizadas como duas linhas ecogênicas paralelas, separadas por uma camada hipoeecogênica. As paredes arteriais são melhor observadas na carótida comum, onde o vaso tem trajeto paralelo à superfície cutânea, representando assim uma área situada em ângulo reto (90°) em relação ao feixe de insonação.

O primeiro eco ao longo da parede distal da carótida comum é derivado da interface lúmen-íntima e o segundo eco, normalmente mais brilhante, origina-se da interface média-adventícia. Entre estas interfaces localiza-se a camada média, a qual aparece como uma zona hipoeecogênica. A distância entre as duas primeiras linhas corresponde à soma da espessura da íntima e da média. Devido ao conteúdo de colágeno, a adventícia é hipereecogênica e aparece como uma zona brilhante realçada na sua margem interna pela camada média. Por sua vez, a periadventícia, dependendo de sua localização, é composta por tecido areolar frouxo e na maior parte dos casos é hipoeecogênica.

Imagem de USG da Carótida Comum



A perda de qualidade da imagem das interfaces na parede carotídea pode ocorrer por limitações técnicas relacionadas ao ângulo de incidência do feixe sonoro em relação à parede vascular. As interfaces podem ser visualizadas na parede proximal, entretanto as linhas podem ser descontínuas e os ecos de menor amplitude, devido ao fato do feixe sonoro estar sendo transmitido do meio tissular para o líquido. Outras causas de perda de qualidade da imagem são

Anexo 3. Manual técnico de coleta das imagens de ultrassom das carótidas.  
(continuação)

lesões na parede vascular, definidas como focos de maior espessamento da parede vascular ou placas ateromatosas.

O espessamento da camada média-íntima é a primeira anormalidade que pode ser identificada ao US modo-B de modo categórico. A progressão da doença aterosclerótica é associada ao aumento das limitações técnicas no processo de avaliação morfológica das lesões vasculares, em decorrência da sombra acústica presente nas lesões maiores.

A documentação da parede posterior da carótida comum, em seu segmento distal, deve ser priorizada. Quando lesões ateroscleróticas forem identificadas no segmento distal e/ou no bulbo carotídeo, sendo estas lesões documentadas "a posteriori" e descritas no item Comentários da Ficha de Resumo do participante.

**ATENÇÃO:** Participantes que apresentarem alterações significativas na imagem, sugestivas de patologia devem ser informadas ao supervisor local responsável. Este profissional deverá tomar as providências necessárias para os devidos encaminhamentos.

Em hipótese alguma o sonografista comentará com o participante as alterações encontradas.



### LONGITUDINAL



### TRANSVERSAL



Anexo 3. Manual técnico de coleta das imagens de ultrassom das carótidas.  
(continuação)

Anexo 4. Instruções aos autores para submissão do artigo 1 para revista Cadernos de Saúde Pública.



## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

### Escopo e política

*Cadernos de Saúde Pública/Reports in Public Health* (CSP) publica artigos originais com elevado mérito científico que contribuam ao estudo da Saúde Coletiva em geral e disciplinas afins.

### Forma e preparação de manuscritos

Recomendamos aos autores a leitura atenta das instruções abaixo antes de submeterem seus artigos a Cadernos de Saúde Pública.

#### 1. CSP aceita trabalhos para as seguintes seções:

**1.1 Revisão:** revisão crítica da literatura sobre temas pertinentes à Saúde Coletiva (máximo de 8.000 palavras e 5 ilustrações);

**1.2 Artigos:** resultado de pesquisa de natureza empírica, experimental ou conceitual (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

**1.3 Comunicação Breve:** relatando resultados preliminares de pesquisa, ou ainda resultados de estudos originais que possam ser apresentados de forma sucinta (máximo de 1.700 palavras e 3 ilustrações);

**1.4 Debate:** artigo teórico que se faz acompanhar de cartas críticas assinadas por autores de diferentes instituições, convidados pelas Editoras, seguidas de resposta do autor do artigo principal (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

**1.5 Fórum:** seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual (máximo de 12.000 palavras no total). Os interessados em submeter trabalhos para essa seção devem consultar o Conselho Editorial;

**1.6 Perspectivas:** análises de temas conjunturais, de interesse imediato, de importância para a Saúde Coletiva, em geral a convite das Editoras (máximo de 1.200 palavras).

**1.7 Questões Metodológicas:** artigo completo, cujo foco é a discussão, comparação e avaliação de aspectos metodológicos importantes para o campo, seja na área de desenho de estudos, análise de dados ou métodos qualitativos (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

**1.8 Resenhas:** resenha crítica de livro relacionado ao campo temático de CSP, publicado nos últimos dois anos (máximo de 1.200 palavras);

**1.9 Cartas:** crítica a artigo publicado em fascículo anterior de CSP (máximo de 1.200 palavras e 1 ilustração).

## **2. Normas para envio de artigos**

**2.1** CSP publica somente artigos inéditos e originais, e que não estejam em avaliação em nenhum outro periódico simultaneamente. Os autores devem declarar essas condições no processo de submissão. Caso seja identificada a publicação ou submissão simultânea em outro periódico o artigo será desconsiderado. A submissão simultânea de um artigo científico a mais de um periódico constitui grave falta de ética do autor.

**2.2** Serão aceitas contribuições em Português, Inglês ou Espanhol.

**2.3** Notas de rodapé e anexos não serão aceitos.

**2.4** A contagem de palavras inclui o corpo do texto e as referências bibliográficas, conforme item 12.13.

## **3. Publicação de ensaios clínicos**

**3.1** Artigos que apresentem resultados parciais ou integrais de ensaios clínicos devem obrigatoriamente ser acompanhados do número e entidade de registro do ensaio clínico.

**3.2** Essa exigência está de acordo com a recomendação do Centro

Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (BIREME)/Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS)/Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre o Registro de Ensaios Clínicos a serem publicados a partir de orientações da OMS, do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) e do Workshop ICTPR.

**3.3** As entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são:

- Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR)
- ClinicalTrials.gov
- International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN)
- Nederlands Trial Register (NTR)
- UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR)
- WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP)

#### **4. Fontes de financiamento**

**4.1** Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo.

**4.2** Fornecedores de materiais ou equipamentos, gratuitos ou com descontos, também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

**4.3** No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

#### **5. Conflito de interesses**

**5.1** Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos

utilizados no estudo pelos fabricantes.

## **6. Colaboradores**

**6.1** Devem ser especificadas quais foram as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo.

**6.2** Lembramos que os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do ICMJE, que determina o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada. Essas três condições devem ser integralmente atendidas.

## **7. Agradecimentos**

**7.1** Possíveis menções em agradecimentos incluem instituições que de alguma forma possibilitaram a realização da pesquisa e/ou pessoas que colaboraram com o estudo, mas que não preencheram os critérios para serem coautores.

## **8. Referências**

**8.1** As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos (p. ex.: Silva 1). As referências citadas somente em tabelas e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto. As referências citadas deverão ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos.

**8.2** Todas as referências devem ser apresentadas de modo correto e completo. A veracidade das informações contidas na lista de referências é de responsabilidade do(s) autor(es).

**8.3** No caso de usar algum *software* de gerenciamento de referências bibliográficas (p. ex.: EndNote), o(s) autor(es) deverá(ão) converter as

referências para texto.

## **9. Nomenclatura**

**9.1** Devem ser observadas as regras de nomenclatura zoológica e botânica, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas.

## **10. Ética em pesquisas envolvendo seres humanos**

**10.1** A publicação de artigos que trazem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos está condicionada ao cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1996, 2000 e 2008), da Associação Médica Mundial.

**10.2** Além disso, deve ser observado o atendimento a legislações específicas (quando houver) do país no qual a pesquisa foi realizada.

**10.3** Artigos que apresentem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos deverão conter uma clara afirmação deste cumprimento (tal afirmação deverá constituir o último parágrafo da seção Métodos do artigo).

**10.4** Após a aceitação do trabalho para publicação, todos os autores deverão assinar um formulário, a ser fornecido pela Secretaria Editorial de CSP, indicando o cumprimento integral de princípios éticos e legislações específicas.

**10.5** O Conselho Editorial de CSP se reserva o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa.

## **11. Processo de submissão *online***

**11.1** Os artigos devem ser submetidos eletronicamente por meio do sítio do Sistema de Avaliação e Gerenciamento de Artigos (SAGAS), disponível em: <http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/index.php>.

**11.2** Outras formas de submissão não serão aceitas. As instruções completas para a submissão são apresentadas a seguir. No caso de

dúvidas, entre em contato com o suporte sistema SAGAS pelo e-mail: [csp-artigos@ensp.fiocruz.br](mailto:csp-artigos@ensp.fiocruz.br).

**11.3** Inicialmente o autor deve entrar no sistema SAGAS. Em seguida, inserir o nome do usuário e senha para ir à área restrita de gerenciamento de artigos. Novos usuários do sistema SAGAS devem realizar o cadastro em “Cadastre-se” na página inicial. Em caso de esquecimento de sua senha, solicite o envio automático da mesma em “Esqueceu sua senha? Clique aqui”.

**11.4** Para novos usuários do sistema SAGAS. Após clicar em “Cadastre-se” você será direcionado para o cadastro no sistema SAGAS. Digite seu nome, endereço, e-mail, telefone, instituição.

## **12. Envio do artigo**

**12.1** A submissão *online* é feita na área restrita de gerenciamento de artigos: <http://cadernos.ensp.fiocruz.br/csp/index.php>. O autor deve acessar a “Central de Autor” e selecionar o link “Submeta um novo artigo”.

**12.2** A primeira etapa do processo de submissão consiste na verificação às normas de publicação de CSP. O artigo somente será avaliado pela Secretaria Editorial de CSP se cumprir todas as normas de publicação.

**12.3** Na segunda etapa são inseridos os dados referentes ao artigo: título, título resumido, área de concentração, palavras-chave, informações sobre financiamento e conflito de interesses, resumos e agradecimentos, quando necessário. Se desejar, o autor pode sugerir potenciais consultores (nome, e-mail e instituição) que ele julgue capaz de avaliar o artigo.

**12.4** O título completo (nos idiomas Português, Inglês e Espanhol) deve ser conciso e informativo, com no máximo 150 caracteres com espaços.

**12.5** O título resumido poderá ter máximo de 70 caracteres com espaços.

**12.6** As palavras-chave (mínimo de 3 e máximo de 5 no idioma original do artigo) devem constar na base da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS).

**12.7** *Resumo*. Com exceção das contribuições enviadas às seções

Resenha, Cartas ou Perspectivas, todos os artigos submetidos deverão ter resumo em Português, Inglês e Espanhol. Cada resumo pode ter no máximo 1.100 caracteres com espaço.

**12.8 Agradecimentos.** Possíveis agradecimentos às instituições e/ou pessoas poderão ter no máximo 500 caracteres com espaço.

**12.9** Na terceira etapa são incluídos o(s) nome(s) do(s) autor(es) do artigo, respectiva(s) instituição(ões) por extenso, com endereço completo, telefone e e-mail, bem como a colaboração de cada um. O autor que cadastrar o artigo automaticamente será incluído como autor de artigo. A ordem dos nomes dos autores deve ser a mesma da publicação.

**12.10** Na quarta etapa é feita a transferência do arquivo com o corpo do texto e as referências.

**12.11** O arquivo com o texto do artigo deve estar nos formatos DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format) ou ODT (Open Document Text) e não deve ultrapassar 1 MB.

**12.12** O texto deve ser apresentado em espaço 1,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12.

**12.13** O arquivo com o texto deve conter somente o corpo do artigo e as referências bibliográficas. Os seguintes itens deverão ser inseridos em campos à parte durante o processo de submissão: resumos; nome(s) do(s) autor(es), afiliação ou qualquer outra informação que identifique o(s) autor(es); agradecimentos e colaborações; ilustrações (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

**12.14** Na quinta etapa são transferidos os arquivos das ilustrações do artigo (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas), quando necessário. Cada ilustração deve ser enviada em arquivo separado clicando em "Transferir".

**12.15 Ilustrações.** O número de ilustrações deve ser mantido ao mínimo, conforme especificado no item 1 (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

**12.16** Os autores deverão arcar com os custos referentes ao material ilustrativo que ultrapasse o limite e também com os custos adicionais para publicação de figuras em cores.



**12.17** Os autores devem obter autorização, por escrito, dos detentores dos direitos de reprodução de ilustrações que já tenham sido publicadas anteriormente.

**12.18 Tabelas.** As tabelas podem ter 17cm de largura, considerando fonte de tamanho 9. Devem ser submetidas em arquivo de texto: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format) ou ODT (Open Document Text). As tabelas devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

**12.19 Figuras.** Os seguintes tipos de figuras serão aceitos por CSP: Mapas, Gráficos, Imagens de satélite, Fotografias e Organogramas, e Fluxogramas.

**12.20** Os mapas devem ser submetidos em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics). Nota: os mapas gerados originalmente em formato de imagem e depois exportados para o formato vetorial não serão aceitos.

**12.21** Os gráficos devem ser submetidos em formato vetorial e serão aceitos nos seguintes tipos de arquivo: XLS (Microsoft Excel), ODS (Open Document Spreadsheet), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

**12.22** As imagens de satélite e fotografias devem ser submetidas nos seguintes tipos de arquivo: TIFF (Tagged Image File Format) ou BMP (Bitmap). A resolução mínima deve ser de 300dpi (pontos por polegada), com tamanho mínimo de 17,5cm de largura.

**12.23** Os organogramas e fluxogramas devem ser submetidos em arquivo de texto ou em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format), ODT (Open Document Text), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

**12.24** As figuras devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

**12.25** Títulos e legendas de figuras devem ser apresentados em arquivo de texto separado dos arquivos das figuras.

**12.26 Formato vetorial.** O desenho vetorial é originado a partir de descrições geométricas de formas e normalmente é composto por curvas, elipses, polígonos, texto, entre outros elementos, isto é, utilizam vetores matemáticos para sua descrição.

**12.27 Finalização da submissão.** Ao concluir o processo de transferência de todos os arquivos, clique em "Finalizar Submissão".

**12.28 Confirmação da submissão.** Após a finalização da submissão o autor receberá uma mensagem por e-mail confirmando o recebimento do artigo pelos CSP. Caso não receba o e-mail de confirmação dentro de 24 horas, entre em contato com a Secretaria Editorial de CSP por meio do e-mail: [csp-artigos@ensp.fiocruz.br](mailto:csp-artigos@ensp.fiocruz.br).

### **13. Acompanhamento do processo de avaliação do artigo**

**13.1** O autor poderá acompanhar o fluxo editorial do artigo pelo sistema SAGAS. As decisões sobre o artigo serão comunicadas por e-mail e disponibilizadas no sistema SAGAS.

**13.2** O contato com a Secretaria Editorial de CSP deverá ser feito através do sistema SAGAS.

### **14. Envio de novas versões do artigo**

**14.1** Novas versões do artigo devem ser encaminhadas usando-se a área restrita de gerenciamento de artigos do sistema SAGAS, acessando o artigo e utilizando o *link* "Submeter nova versão".

### **15. Prova de prelo**

**15.1** Após a aprovação do artigo, a prova de prelo será enviada para o autor de correspondência por e-mail. Para visualizar a prova do artigo será necessário o programa Adobe Reader ou similar. Esse programa pode ser instalado gratuitamente pelo *site*: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

**15.2** A prova de prelo revisada e as declarações devidamente assinadas deverão ser encaminhadas para a Secretaria Editorial de CSP por e-mail

([cadernos@ensp.fiocruz.br](mailto:cadernos@ensp.fiocruz.br)) ou por fax +55(21)2598-2737 dentro do prazo de 72 horas após seu recebimento pelo autor de correspondência.

Anexo 5. Instruções aos autores para submissão do artigo 3 para revista PLOS ONE.

## **Submission Instructions**

These are step-by-step instructions for submitting a manuscript to our [online submission system](#).

**Tip:** Keep this page open for your reference as you move through the submission process.

Do not follow these instructions if you are resubmitting a revised manuscript, are responding to a technical check inquiry, or have otherwise already submitted this manuscript to *PLOS ONE*.

## **Begin**

Go to [Editorial Manager](#) and log in.

## **Submit new manuscript**

Click on the “Submit New Manuscript” link under the “New Submissions” heading. This will take you to a new screen.

## **Article type**

Next, select your article type. Most submissions will be either a Research Article or a Clinical Trial.

## **Title**

Enter the title and short title of your manuscript. Please do not enter your titles in all capital letters.

## **Contributors**

Next you will be asked to enter the names, email addresses, and institutional affiliations for each author. Each author should have made real and concrete contributions to the manuscript; you will have the opportunity to describe each author’s contribution in a further step. Each author should also be aware of the

submission and approve the manuscript submitted. PLOS does not condone or accept guest authorship.

[Read our authorship policy.](#)

### **Corresponding author**

Additionally, you will be asked to designate one author to act as corresponding author. Note that this is the person who will receive correspondence from the *PLOS ONE* editorial office, but does not need to be the person who will appear as corresponding author on the paper if accepted.

The corresponding author is responsible for ensuring that the author list and author contributions are accurate and complete. The person noted as the corresponding author should be the person who is actually responsible for ensuring that all the proper forms are submitted and accurate, and should be readily available for correspondence if *PLOS ONE* editors have questions or concerns.

If a corresponding author will not be available for an extended period of time, please inform *PLOS ONE* at [plosone@plos.org](mailto:plosone@plos.org).

### **Category**

Next, you'll receive a prompt about your paper's Section/Category. If your paper describes primary research on human subjects, indicate that here by selecting the category Clinical; if not, select Other.

### **Abstract**

This should exactly match the text of the Abstract in your manuscript file.

### **Keywords**

These will help expedite the internal processing of your manuscript. You will not have another opportunity to edit these, so please make sure to add concise, accurate keywords at this point.

## **Competing interests**

Please declare any affiliations or relationships that could be viewed as potentially competing interests. This information will be published with the final manuscript, if accepted, so please make sure that this is accurate and as detailed as possible.

[Read our policy on declaring competing interests.](#)

## **Financial disclosure**

Please disclose your funders and the role they played in your manuscript. This information will be published with the final manuscript, if accepted, so please make sure that this is accurate and as detailed as possible.

Please include relevant grant numbers and the URL of any funder's website. Please also state whether any individuals employed or contracted by the funders (other than the named authors) played any role in: study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. If so, please name the individual and describe their role. If no individuals employed or contracted by the funder(s), other than the authors, were involved in these tasks and the authors had unrestricted access to the data, please state, "The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript."

## **Ethics statement**

You must provide an ethics statement if your study made use of human or vertebrate animal subjects and/or tissue. The text in this field should exactly match the text of the ethics statement in the body of your paper; we recommend that you cut and paste your paper's ethics statement into this field. The information submitted here will be evaluated by the *PLOS ONE* editors to ensure that it meets our standards, so please include as much information as possible. See the [PLOS ONE Criteria for Publication](#) for more information about ethics requirements.

### **Previous interactions**

If you are submitting your manuscript following a recommendation from another PLOS journal, or if you have had a previous interaction with *PLOS ONE* about the manuscript or closely related manuscripts, please indicate the extent of your previous interaction here.

### **Suggest Academic Editors**

Please recommend 2-5 Academic Editors from our board who you feel are qualified to handle your submission based on their areas of expertise.

### **Collections submission**

Please indicate if you are submitting your paper as a part of a collection. More information about collections can be found here.

### **New taxon**

If your paper describes a new taxon, please give its name. Read the guidelines for describing a new taxon.

### **Dual publications**

Please explain whether any of the elements of your paper have ever been published anywhere before. If so, we may have to consider copyright issues, so it is very important that you provide this information in full.

### **US Government employee**

If you are an employee of the US Government, please indicate that here.

### **Author contributions**

This is a series of questions that will enable you to state the contributions of each author. Each author listed on the manuscript should have made a real and concrete contribution to the submission, and each person who contributed to the manuscript should be listed. More information about authorship can be found in the Editorial Policies.

## **Required statements**

Next you must enter your initials to indicate your agreement with four required statements regarding [PLOS Editorial and Publishing Policies](#).

## **Direct billing to institutions and funders**

If your institution has a direct billing relationship with PLOS, please indicate this here.

## **Publication fees**

Select the country that provided the primary funding for the research in the submission.

For questions about publication fees, you must [contact the Author Billing department](#). Do not email the journal about publication fees.

## **Enter comments**

You may enter comments for the editorial office here.

## **Oppose reviewers**

If there are people you think should not be invited to review your paper, please provide their information here, as well as the reason for opposition. If there are any Academic Editors you think should not be invited to review your paper, please also provide their information here, making clear that they are an editor, not a reviewer. You must also provide an explanation for your opposition.

## **Attach files**

Now you will upload your cover letter and each of the files to be included in your manuscript. For each file you upload to the system, you will select the file type from the "Item" drop down menu. Enter or amend the autofill description for each file in the Description box. When you are done uploading files, you will have an opportunity to review your file inventory before finalizing your submission.



### **Review file inventory**

When you are satisfied, click “Next” at the bottom of this page. If you experience any issues with your figures, please watch this [short video](#).

### **Create a PDF**

In this step, the system will merge all of your files into a PDF for your approval. When you are ready, approve the PDF to finalize your submission.

### **Revised manuscripts**

Are you submitting a revision? [Read the guidelines for revised manuscripts](#).

### **Help**

Please contact [plosone@plos.org](mailto:plosone@plos.org) if you have any questions.