UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

LUDMILA MACÊDO NAUD

Consumo de ácidos graxos e álcool e sua relação com subfrações lipídicas quantificadas por ultracentrifugação vertical

São Paulo
2019
Edição revisada

LUDMILA MACÊDO NAUD

Consumo de ácidos graxos e álcool e sua relação com subfrações lipídicas quantificadas por ultracentrifugação vertical

Versão Revisada

Tese apresentada à Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catalogação da Publicação
Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Naud, Ludmila Macêdo
Consumo de ácidos graxos e álcool e sua relação com subfrações lipídicas quantificadas por ultracentrifugação vertical / Ludmila Macêdo Naud; orientador Paulo Andrade Lotufo. -- São Paulo, 2019.
157 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2019.

1. Perfil lipídico. 2. Ingestão Alimentar. 3. Consumo de Álcool. 4. ELSA-Brasil. I. Lotufo, Paulo Andrade, orient. II. Título.

NAUD, L. M. **Consumo de ácidos graxos e álcool e sua relação com subfrações lipídicas quantificadas por ultracentrifugação vertical.** 2019. Tese (Doutorado em Epidemiologia) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Aprovado em: 24/05/2019.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Danielle Bivanco de Lima

Instituição: Santa Casa de Misericórdia de São Paulo

Julgamento: Aprovada.

Prof. Dr. Dirce Maria Lobo Marchioni

Instituição: Universidade de São Paulo

Julgamento: Aprovada.

Prof. Dr. Bianca de Almeida Pittito

Instituição: Universidade Federal de São Paulo

Julgamento: Aprovada.

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo, que me acolheu, incentivou e direcionou esta pesquisa. Agradeço pela confiança e todo o aprendizado destes sete anos de convivência.

Agradeço à Prof. Dra. Isabela Judith Martins Benseñor, pela colaboração e todos os ensinamentos que contribuíram para a minha formação.

À professora Dra. Dirce Maria Lobo Marchioni, pela disponibilidade e importante contribuição para este trabalho e que esteve presente na banca de defesa deste trabalho. Também agradeço às professoras Dra.s Danielle Bivanco de Lima e Bianca de Almeida Pittito, que tanto ajudaram na versão final.

Agradeço aos colegas do Centro de Pesquisa Clínica e Epidemiológica do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, pelos anos de convivência, aprendizado e parceria.

Agradeço ao Grupo de Estudos Epidemiológicos e Inovação em Alimentação e Saúde, pelos ensinamentos e colaboração.

Aos funcionários da Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade de São Paulo e aos colegas de turma, sempre solícitos e sempre parceiros.

Agradeço aos meus colegas de trabalho da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Ministério da Saúde, por terem provocado tantas discussões a respeito da ética em pesquisa e pela compreensão de que este trabalho precisava ser concluído.

Agradeço ao meu avô, José Santiago Naud, que me ensinou o gosto pela leitura e educação, da melhor forma, pelo exemplo.

E, por fim, mas não com menos importância, agradeço à minha avó, Leda Maria Cardoso Naud, que foi a pessoa que mais contribuiu para este trabalho. A vontade que ela tinha que isso se concluísse me motivou muito. Agradeço às conversas, ensinamentos, incentivo e suporte, sem ela não saberia onde estaria. Essa tese se deve a ela, que esteja onde estiver, estará no meu coração.

À minha avó, Leda Maria Cardoso Naud (*in memoriam*), que sonhava muito com esse trabalho.

RESUMO

Naud, Ludmila Macêdo. **Consumo de ácidos graxos e álcool e sua relação com subfrações lipídicas quantificadas por ultracentrifugação vertical.** 2019. Tese (Doutorado em Epidemiologia) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

Nesta tese, determinou-se o consumo alimentar e consumo de álcool de 2972 participantes de pesquisa do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil). Por análise transversal, foram coletados dados demográficos, socioeconômicos, de hábitos de vida, antropométricos, medidas bioquímicas, Questionário de Frequência Alimentar e Consumo de Álcool. Posteriormente foi identificada a relação da dieta (manuscrito 1) e álcool (manuscrito 2) com as subfrações de colesterol medidas por ultracentrifugação vertical, denominada *Vertical Auto Profile* (VAP). Correlação de Spearman foi realizada para determinar a relação entre as medidas plasmáticas e dietéticas e a correlação canônica foi feita para verificar a associação entre os grupos com mais associação (manuscrito 1). No manuscrito 2, foi verificado o efeito do consumo de álcool, bem como o tipo de bebida alcóolica em diferentes medidas lipídicas em ambos os sexos da população e a análise foi feita pelo teste One-Way ANOVA para comparação dos tipos de bebida consumida e Teste t de Student para a comparação de quantidade de consumo. Foi identificada baixa associação entre a ingestão de ácidos graxos dietéticos e perfil lipídico (manuscrito 1) e quanto ao consumo de álcool, independentemente do tipo de bebida alcóolica consumida, o álcool resultou em melhor perfil lipídico, com níveis significativamente maiores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol, tanto em homens quanto mulheres. Os triglicerídeos tiveram efeitos inversos para homens e mulheres no perfil lipídico. Conclui-se que são necessários maiores estudos para confirmar o efeito dos hábitos de vida no perfil lipídico e que não só a alimentação, mas também outros fatores como atividade física e genética interferem nos resultados. Também se pode depreender que existe impacto da variabilidade biológica na resposta ao colesterol.

Palavras-chave: Perfil lipídico. Ingestão Alimentar. Consumo de Álcool. ELSA-Brasil.

ABSTRACT

Naud, Ludmila Macêdo. **Consumption of fatty acids and alcohol and its relation with lipid subfractions quantified by vertical ultracentrifugation**. 2019. Thesis (Doctorate in Epidemiology) - Faculty of Public Health, University of São Paulo, São Paulo, 2019.

In this thesis, food and alcohol consumption of 2972 subjects were determined from the Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brazil). By a cross-sectional analysis, demographic, socioeconomic, life habits, anthropometric, biochemical, electrochemical, biochemical, biochemical, biochemical, biochemical and serum data were analyzed. Subsequently, a relationship between the diet (manuscript 1) and alcohol (manuscript 2) with evaluation of lipid subfractions was identified through vertical ultracentrifugation, called Vertical Auto Profile (VAP). Spearman correlation was performed to verify the relationship between plasma and dietary measures and canonical correlation to verify the association between groups with more association between them (manuscript 1). In manuscript 2, the effect of alcohol consumption as well as the type of alcoholic beverage in different lipid measurements in both sexes of the sample was verified and the analysis was done by the One-Way ANOVA test to compare the types of beverage consumed and Student's T Test for the comparison of quantity of consumption. It was identified a low association between dietary fatty acid intake and lipid profile (manuscript 1) and alcohol consumption, regardless of the type of alcohol consumed, alcohol resulted in a better lipid profile, with significantly higher levels of HDL-cholesterol, HDL2-cholesterol and HDL3-cholesterol in both men and women. Triglycerides had inverse effects for men and women on the lipid profile. It is concluded that further studies are needed to confirm the effect of lifestyle habits on the lipid profile and not only the diet, but also other factors such as physical and genetic activity interfere in the results. It can also be deduced that there is an impact of biological variability on the cholesterol response.

Key words: Lipid profile. Food Ingestion. Alcohol consumption. Bioethics. ELSA-Brazil.

Sumário

1. Introdução 21
1.1. Alimentação 29
1.2. Consumo de álcool 31
1.4. Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) 37
2. Objetivos 41
2.1. Objetivo geral 41
2.2. Objetivos específicos 41
3. Metodologia 45
3.1. Delineamento e população do estudo 45
3.2. Instrumentos 46
3.2.1. Variáveis sanguíneas 46
3.2.1.1. Variáveis lipídicas 51
3.2.2. Avaliação dietética 54
3.2.3. Consumo de álcool (CAL) 56
3.3. Ética em pesquisa 57
3.4. Variáveis de estudo 58
3.4.1. Primeiro manuscrito – *Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults. The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)* 58
3.4.2. Segundo manuscrito – Perfil Lipídico e Consumo de Bebida Alcóolica: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) 59
4. Resultados e discussão 63
4.1. Primeiro manuscrito - *Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults. The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)* 63
Table 2: Dietary intake of participants 74
4.2. Segundo manuscrito - Perfil lipídico e consumo de bebida alcóolica: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto 82
5. Conclusão 103
6. Referências bibliográficas 107
Anexo I: Questionário de Frequência Alimentar aplicado 118
Anexo II: Consumo de Álcool (CAL) 128
Anexo III: Aprovação ética 129
130

131
Anexo IV: Parecer Conep – Biobanco 143
Anexo V: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 147
Anexo VI: Comprovante de submissão do primeiro manuscrito 156
Anexo VII: Comprovante de Submissão segundo manuscrito 157

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1: Participantes do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) 3

Figura 2: Organização geral do protocolo do biorrepositório 5

Tabela 1: Alíquotas disponíveis ao final da linha de base do estudo, para cada participante de pesquisa.....6

Figura 3: Rotação única de separação de gradiente de densidade 9

Figura 4: Os passos envolvidos no teste Vertical Auto Profile (VAP) 10

Figura 5: Dois exemplos de VAP. A área embaixo da curva contínua (curva pontilhada), mostrando cinco classes de picos de lipoproteína (HDL-colesterol, Lp(a), LDL-colesterol, IDL-colesterol e VLDL-colesterol), corresponde ao colesterol total. As áreas abaixo das cinco curvas sólidas individuais correspondem às concentrações de HDL-colesterol, Lp(a), LDL-colesterol, IDL-colesterol e VLDL-colesterol determinadas pela deconvolução da curva contínua principal. (A) Perfil do colesterol de um paciente que tem Lp(a) elevado. (B) Perfil do colesterol de um paciente com IDL-colesterol elevado. 10

Tabela 2: Variáveis de estudo segundo o manuscrito (1º manuscrito), ELSA-Brasil 2019. São Paulo. Brasil 15

Tabela 3: Variáveis de estudo segundo o manuscrito (2º manuscrito). ELSA-Brasil 2019. São Paulo. Brasil 16

LISTA DE ABREVIATURAS

CAL: Consumo de Álcool

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CNS: Conselho Nacional de Saúde

Conep: Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

DALY: Anos de vida perdidos ajustados por incapacidade

DCNT: Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DCV: Doenças Cardiovasculares

DM: *Diabetes mellitus*

ELSA-Brasil: Estudo longitudinal de Saúde do Adulto

FDA: *Food and Drug Administration*

Fiocruz: Fundação Oswaldo Cruz

GBD: *Global Burden of Health*

IATA: *International Ari Transport Association*

Kcal: Kilocaloria

OCDE: Cooperação e Desenvolvimento Econômico

QFA: Questionário de Frequência Alimentar

SENAD: Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas

UFBA: Universidade Federal da Bahia

UFES: Universidade Federal do Espírito Santo

UFMG: Universidade Federal de Minas Gerais

UFRGS: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

USP: Universidade de São Paulo

VAP: *Vertical Auto Profile*

VIGITEL: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

VIVA Inquérito: Violência e Acidentes em Unidades de Urgência e Emergência

INTRODUÇÃO

1. Introdução

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são um grande desafio, pois representam a principal causa de mortalidade no mundo, geram elevados custos para o sistema de assistência médica, comprometendo o desenvolvimento socioeconômico de um país, bem como a qualidade de vida dos portadores dessas doenças. Assim sendo, diferentes países, independentemente de seu grau de desenvolvimento social e econômico, têm movido esforços conjuntos para o controle e prevenção das DCNTs, com metas globais visando à redução da morbimortalidade em geral, segundo dados da *Global Burden of Disease (Global Burden of Disease,* 2018).

Em 2017, as DCNTs foram responsáveis por, aproximadamente, 56 milhões de óbitos em todo o mundo. A mortalidade por doenças cardiovasculares (DCV) atingiu cerca de 17,5 milhões, estando entre as principais enfermidades juntamente com o câncer, as doenças respiratórias crônicas e o diabetes. Destaca-se que quase 75% das mortes por DCNT ocorreram em países de baixa e média rendas (*Global Burden of Disease*, 2018). Por outro lado, em relação às últimas décadas, o Brasil tem apresentado redução na taxa de mortalidade padronizada das DCNT, na faixa etária de 30 a 69 anos. As doenças do aparelho circulatório ainda ocupam o primeiro lugar e assumiram nos anos de 2010 e 2011, respectivamente, 31,2% e 30,4% da mortalidade (Malta e Silva Jr., 2014). Observa-se que, devido às dimensões continentais do país, esse declínio não foi homogêneo em sua extensão, demonstrando importantes diferenças de acordo com fatores socioeconômicos (Lotufo, 2015).

Segundo o relatório anual do *Global Burden of Disease* do ano de 2017, as DCV constituíram uma grande causa de morte em todo o mundo, sendo responsáveis por 73,4% de todas as mortes em nível global em 2017. O total de número de mortes de DCV aumentou de 2007 a 2017 em 22,7%, representando um adicional de 7,61 milhões de mortes estimadas em 2017 versus 2007 (*Global Burden of Disease*, 2018). Além disso, as reduções na taxa de mortalidade de por DCNT diminuíram e a taxa de mortalidade de causas selecionadas aumentou (*Global Burden of Disease,* 2018).

Acredita-se que mudanças no estilo de vida, associadas ao crescimento econômico e urbanização, reduções na morbimortalidade por doenças transmissíveis e na mortalidade perinatal, acompanhadas de aumento na prevalência de doenças crônicas, estão relacionadas à carga global das DCV, refletindo o período de transição epidemiológico que atravessam estes países (*Global Burden of Disease*, 2005).

No Brasil, tais doenças representam uma ameaça ao desenvolvimento social e econômico, sobretudo devido à grande proporção de óbitos que ocorrem prematuramente, além da elevada morbidade que acarretam, sendo frequentemente responsáveis pela invalidez parcial ou total do indivíduo, com graves repercussões para a pessoa acometida, sua família e sociedade (Siqueira *et al.*, 2017). Dados do Ministério da Saúde evidenciam que as DCV continuam a ser a principal causa de morte na população brasileira, sendo que do total de óbitos registrados, 384.615 óbitos foram decorrentes de DCV, o que corresponde a 31% do total e 42% das mortes por DCNT em 2012. Além disso, o custo das internações por DCV é considerado o maior entre as causas de internações hospitalares no Brasil (Duncan *et al.*, 2012). O envelhecimento populacional, proveniente do aumento da expectativa de vida do brasileiro tende a aumentar a incidência de DCV e, consequentemente, os gastos dispendidos em medicamentos, custos da previdência social e custos em serviços de saúde (Siqueira *et al.*, 2017). Estes fatos reforçam a importância desta condição e alertam para a adoção de medidas preventivas efetivas. Desta forma, a consequente redução na morbidade e mortalidade relacionadas às DCVs deve ser um dos principais objetivos das políticas de saúde pública no Brasil e no mundo.

Neste sentido, torna-se necessário investigar os fatores de risco envolvidos na etiologia e progressão da DCV, pois a sua identificação e controle têm importância crucial na predição do desenvolvimento e na prevenção das manifestações clínicas destas patologias, impactando na redução da morbimortalidade por DCV. Os fatores de risco cardiovascular são caracterizados pela sua prevalência cada vez mais precoce na população (May *et al.*, 2012), mas também, por serem passíveis de controle por meio de modificações no estilo de vida, como por exemplo, dieta, tabagismo, atividade física e consumo de álcool (Ribeiro *et al.*, 2012). Dados do estudo *Framingham Heart Study* (D' Agostino *et al.*, 2008) demonstraram o papel das dislipidemias, hipertensão arterial sistêmica, fumo,

idade e DM como fatores de risco independentes para a aterosclerose e, consequente, doença cardíaca. Além destes, existe a influência de outros potenciais fatores de risco, tais como as concentrações aumentadas de fibrinogênio plasmático, de homocisteína e de fatores inflamatórios, como a proteína C reativa de alta sensibilidade.

Outro fator de risco cardiovascular bastante discutido na literatura são as dislipidemias (Hendrani *et al.*, 2016), que são alterações metabólicas lipídicas decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico que ocasionem repercussão nos níveis séricos das lipoproteínas, incluindo elevadas concentrações de quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL-colesterol) e/ou lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol), assim como baixas concentrações de lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol) (Nelson, 2013).

Estas alterações lipídicas representam um dos mais importantes fatores para o desenvolvimento e progressão da doença aterosclerótica que constitui uma das principais causas de DCV (Hendrani *et al.*, 2016). O colesterol total deposita-se na parede arterial constituindo um componente das placas de ateroma quando se encontra numa concentração aumentada no plasma. O colesterol é produzido no fígado e transportado no sangue por moléculas compostas de proteínas e gorduras, as lipoproteínas.

A fração do LDL-colesterol compõe aproximadamente 70% do colesterol total sérico e é reconhecida como a principal lipoproteína aterogênica (Tsompanidi *et al.*, 2010), contribuindo significativamente para a formação da placa de ateroma. A formação da placa aterosclerótica inicia-se por agressão ao endotélio vascular, mediada por diversos fatores que incluem, entre outros, a elevação de lipoproteínas aterogênicas (LDL-colesterol, VLDL-colesterol e remanescentes de quilomícron). O endotélio disfuncional apresenta maior permeabilidade às lipoproteínas plasmáticas, favorecendo a infiltração e acúmulo destas no espaço subendotelial. Esta fase de infiltração lipídica é seguida por modificações oxidativas de LDL-colesterol, ou seja, as partículas de LDL-colesterol sofrem oxidação, levando novamente à disfunção endotelial. Desta forma, o risco de aterosclerose aumenta significativa e progressivamente em indivíduos com concentrações de colesterol total e LDL-colesterol acima do normal, bem como, com o aumento das concentrações de triglicerídeos e diminuição da fração de HDL-colesterol.

A glicemia em jejum alterada também é considerada como um fator de risco de acometimentos cardiovasculares, pois a sua elevação plasmática acima dos valores de referência (100mg/dL) indica um potencial risco para o DM e uma consequente quebra da homeostase metabólica com aumentos significativos dos valores basais de colesterol total e triglicerídeos (Schaan *et al.*, 2004).

Entre os mecanismos fisiopatológicos pelos quais a hiperglicemia resulta em aceleração da aterotrombogênese está a glicação de lipoproteínas, prolongando a meia-vida de LDL, facilitando a sua oxidação e aumentando o seu poder de agressão ao endotélio, além da formação de outros produtos finais de glicação, que promovem a disfunção endotelial generalizada (Laakso e Manninen, 1997).

A dieta tem impacto na dislipidemia. A hipótese clássica dieta-coração está associada ao seu impacto nos níveis de colesterol sérico, o que poderia predizero o risco cardiovascular. As equações propostas por Keys (Keys, 1984) e Hegsted (Hegsted, 1986) indicam que, comparado ao carboidrato, o aumento no consumo de ácidos graxos saturados e colesterol dietético aumentaria o colesterol sérico, enquanto o alto consumo de ácidos graxos poli-insaturados poderia diminuir o colesterol sérico, enquanto o ácido graxo monoinsaturado não teria nenhum efeito no colesterol sérico. Essas equações predizem bem o colesterol total, mas existe evidência de que as subfrações de HDL-colesterol está forte e inversamente relacionada com o risco cardiovascular (Castelli, 1983; Ginsberg et al., 1990; Mensink, Katan, 1987; Mensink, Katan, 1992). A substituição do carboidrato por gordura saturada poderia reduzir o HDL-colesterol (Mensink et al., 2003), assim como substituir ácidos graxos monoinsaturadas por saturada reduz LDL-colesterol, sem afetar o HDL-colesterol (Mensink et al., 2003).

É importante destacar que os fatores de risco cardiovasculares são frequentes na população geral e podem se apresentar simultaneamente no mesmo indivíduo, o que pode pressupor a maximização do risco e potencial aceleração do processo de DCV. A predisposição genética e os fatores ambientais, tais como o tabagismo, o sedentarismo, o consumo de bebida alcóolica, dieta hipercalórica, dieta rica em gorduras saturadas e sal e pobre em vegetais e frutas podem contribuir para a simultaneidade destes fatores de risco (*Global Burden of Disease*, 2017). Contudo, estima-se que 75% das mortes por DCV podem ser reduzidas com mudanças no estilo de vida da população que interferem nos fatores de risco modificáveis, sendo

este o grande desafio das diversas diretrizes existentes em prevenção cardiovascular.

Os hábitos de vida, como a alimentação e o consumo de álcool determinam a frequência e intensidade de fatores de risco para doenças cardiovasculares. Apesar de existirem alguns estudos a respeito do impacto da dieta e consumo de álcool no desenvolvimento de doenças coronarianas, ainda é difícil mensurar de maneira exata o grau de sua importância, de maneira quantitativa e/ou qualitativa (Verschuren *et al.*, 1995)

1.1. Alimentação

O que se sabe atualmente sobre a relação entre a alimentação e os fatores de risco e determinantes para doenças cardiovasculares vieram de resultados do Seven Countries Study (Feinleib, 1981), Ni-Ho-San Study (Curb e Marcus, 1991), o Nurses' Health Study (Colditz *et al.*, 1997) e o Projeto WHO MONICA (H, 2003). As primeiras recomendações acerca da dieta foram formuladas em 1989 pela Organização Mundial da Saúde (OMS). A importância relacionada entre a alimentação e doenças crônicas é que a dieta inadequada pode levar ao aumento da pressão arterial, aumento da glicemia, aumento de lipídeos séricos e ao aparecimento de sobrepeso e obesidade, fatores de risco intermediários para o desenvolvimento de doenças cardíacas.

Comparando o hábito alimentar populacional, observa-se uma transição nutricional que está amplamente relacionada com fatores de risco e doenças. Enquanto um país se desenvolve e mais pessoas adquirem alimentos processados em oposição aos alimentos não-processados, há um aumento da proporção de calorias, especialmente gorduras e açúcares. Não só as mudanças na dieta são notadas, mudanças na produção dos alimentos e tecnologia do trabalho diminuem o exercício físico, que contribuem também para o gasto energético (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011).

O Brasil acompanhou as mudanças nutricionais mundiais. Alterações nos padrões alimentares são notadas em todos os estratos sociais e faixas etárias. Segundo dados da POF 2008/2009 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2011), uma importante mudança é o aumento no consumo de alimentos ricos em

‘açúcar’, ‘sódio’, ‘gordura saturada’ e ‘trans’. Alimentos como ‘carnes e derivados’, ‘leite e derivados’, ‘biscoitos’, ‘refrigerantes’ e ‘refeições prontas’ tiveram aumento no consumo. No entanto, houve piora na qualidade da dieta, com alimentos ricos em aminoácidos e carboidratos complexos diminuíram, como é o caso do ‘arroz’, ‘feijão’, ‘raízes e tubérculos’.

Neste sentido, nas últimas décadas, novas linhas de investigação tem dado especial importância à alimentação, sugerindo potenciais benefícios na saúde cardiovascular de indivíduos que possuem hábitos de vida saudáveis.

Ainda existem controvérsias entre os diferentes tipos de ácidos graxos e DCV. Evidências recentes sugerem que diferentes tipos de ácidos graxos dietéticos têm efeitos diferentes no risco cardiovascular, e os efeitos também dependem do macronutriente utilizado na substituição do ácido graxo.

Ingestão total de gordura tem baixa associação com as taxas de DCV, enquanto gordura saturada está positivamente associada com DCV. Assim como pode haver uma redução significativa no risco cardiovascular se os ácidos graxos saturados forem substituídos por gorduras insaturadas, especialmente se forem ácidos graxos poli-insaturados (Wang e Hu, 2017). Tanto os ácidos graxos poli-insaturados, como os ácidos linolênico e linoleico estão associados a um menor risco de DCV, embora os efeitos na suplementação oral ainda permaneçam inconsistentes. No entanto, os resultados em alimentação podem ser confundidos com diferenças no outros fatores de risco de DCV (Willett e Stampfer, 2013).

Por outro lado, a ingestão de gordura trans produzida industrialmente está consistentemente associada a um maior risco de DCV. Gordura trans aumenta o LDL-colesterol e diminui o HDL-colesterol (Ascherio et al., 1999), aumenta a proporção de partículas pequenas, densas e aterogênicas de LDL-colesterol (Linchtenstein et al., 1999), aumenta a Lipoproteína A (Mensink et al, 1992; Nestel et al., 1992), e aumenta marcadores inflamatórios relacionados com DCV (Mozaffarian et al., 2004; Baer et al., 2004).

As últimas Diretrizes Dietéticas enfatizam mais os tipos de gordura na dieta do que a quantidade total de gordura para a prevenção de DCV, justificando a necessidade de estudos sobre o assunto (Wang e Hu, 2017). O Guia Alimentar para a População Brasileira de 2014 também enfatiza a qualidade da dieta em detrimento da quantidade de calorias (Ministério da Saúde, 2014),

1.2. Consumo de álcool

O álcool é uma substância psicoativa com capacidade de dependência, sendo possível consumi-lo por meio de diferentes tipos de bebida. Historicamente difundido e aceito socialmente. O impacto no binômio saúde-doença é diferenciado pela quantidade e frequência da ingestão. O uso moderado associa-se a menor incidência de doença coronariana e de diabetes. Por outro lado, a ingestão crônica e excessiva associa-se a acidente vascular cerebral hemorrágico, cirrose hepática, distúrbios psiquiátricos, além do aumento de acidentes no trânsito (*Global Burden of Disease*, 2018).

Os efeitos do consumo de etanol são diversos, os achados mais recentes apontam potenciais efeitos benéficos do consumo moderado de álcool sobre a DM e os biomarcadores cardiovasculares para obesidade. Existem fortes evidências de que diferentes tipos de bebidas alcoólicas apresentam efeitos diferentes na redução de risco de diabetes tipo 2. O vinho, por exemplo, levou a melhores resultados na redução do que a cerveja e os destilados que mostraram apenas uma pequena diminuição no risco de diabetes tipo 2 (Huang *et al.*, 2017). O uso de álcool também é relacionado a melhores biomarcadores cardiovasculares, como triglicerídeos, colesterol total e HDL-colesterol. Apesar disso, é importante ressaltar que os resultados encontrados não são lineares e se associam ao consumo moderado de etanol (Vu *et al.*, 2016).

Uma das prioridades em saúde pública é a prevenção e a redução do uso excessivo de álcool, por representar danos para a sociedade em geral. A OMS objetiva a diminuição dos encargos sociais e de saúde decorrentes do consumo de etanol (*Global Burden of Disease*, 2017). Assim sendo, o uso de álcool, juntamente com o baixo peso na infância, o tabagismo, sexo inseguro, ausência de saneamento básico e pressão arterial elevada são responsáveis por um quarto de todas as mortes no mundo e um quinto de todos os anos de vida com qualidade perdidos. Estima-se que a redução da exposição a esses fatores de risco aumentaria a expectativa de vida global em quase cinco anos (*Global Burden of Disease*, 2017).

As quantidades de consumo seguro e as recomendações sobre a ingestão diária de álcool máxima variam entre e dentro dos países, não apresentando consenso quanto aos limites de uso (Kalinowski e Humphreys, 2016). A dose padrão de consumo também não apresenta concordância internacional, variando de 10 a 14

gramas de etanol puro a cada consumo. A OMS adota de 10 a 12 gramas de álcool puro como dose padrão. No Brasil, a Secretaria Nacional de Política sobre Drogas (SENAD) estipula 13,6 gramas e, nos Estados Unidos da América, o Instituto Nacional de Abuso de Álcool e Alcoolismo (*National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*) determina 14 gramas (*Global Burden of Disease*, 2017). De acordo com as Diretrizes Alimentares para Americanos para 2015-2010, o consumo moderado é o uso de menos de uma dose por dia para mulheres e menos de duas doses para os homens.

No ano de 2010, quase metade da população no mundo (48%) e do Brasil (42%) era abstêmia ou referiu não ter feito uso de álcool no ano anterior. Entre os brasileiros, as mulheres são a maioria entre as abstêmias. A OMS estima que indivíduos acima de 15 anos de idade consumiram, em média, 6,2 litros de etanol por ano, o que se traduz em 13, 5 gramas de álcool puro por dia. No Brasil, o consumo total estimado é o equivalente a 8,7 litros por pessoa por ano (homens com 13,6 litros ao ano e mulheres com 4,2 litros ao ano), o que é superior à média de consumo mundial. Quando são excluídos os abstêmios, a média se eleva para 15,1 litros de álcool puro por pessoa por ano (*Global Burden of Disease*, 2017). São considerados consumidores excessivos de álcool quando o valor por semana de álcool puro ultrapassa 210g por semana para homens e 140g por semana para mulheres (Wakabayashi, 2008).

Com base em dados de 34 países membros da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) (2015), no ano de 2013, o consumo médio anual de álcool em maiores de 15 anos foi de 8,9 litros por pessoa e de, aproximadamente, 7,2 litros no Brasil. Conforme o I Levantamento Nacional sobre os Padrões de Consumo de Álcool na população Brasileira, 52% dos brasileiros acima de 18 anos bebiam ao menos uma vez por ano, sendo a cerveja o tipo de bebida mais consumida (61%), seguida pelo vinho (25%) (Laranjeira *et al.*, 2010). Estudo realizado com 15.105 participantes de pesquisa do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil), no ano de 2008 a 2010, na faixa etária de 35 a 74 anos de idade, concluiu que quase metade dos participantes de pesquisa (48%) fazia uso de algum tipo de bebida alcóolica, sendo a cerveja a bebida mais consumida, seguida do vinho e destilados. A média de doses consumidas por semana, considerando todas as bebidas, foi de 5 para as mulheres e o dobro para os homens (Martinez *et al*., 2019).

Comparando dados de 2006 com os de 2010, observou-se um pequeno aumento no número de indivíduos que referiram ser abstêmios (48% x 50%). Contudo, houve aumento na frequência de uso de etanol e na quantidade habitual de álcool consumida entre adultos de ambos os sexos. Adicionalmente, o consumo regular de bebidas é iniciado cada vez mais cedo (13% tinham experimentado a primeira bebida alcóolica com menos de 15 anos de idade em 2006 e 22% em 2012) (Laranjeira *et al.*, 2010).

Além da quantidade total consumida, o padrão de consumo (quantidades de doses consumidas por ocasião e a ocorrência de consumo junto às refeições) interfere no risco e prejuízos à saúde relacionados ao etanol. O uso excessivo episódico, também conhecido como *binge drinking*, é caracterizado pelo consumo de 5 doses ou mais (equivalente a 60 gramas de álcool puro) em uma única ocasião ao menos uma vez no último mês. Tal padrão foi constatado em 16% na população mundial; sendo no Brasil, 22% da população consumidora de álcool (*Global Burden of Disease*, 2017).

As estimativas de consumo variam na população brasileira. A primeira Pesquisa Nacional sobre Padrões de Consumo de Álcool foi realizada pela Unidade de Pesquisa em Álcool e Drogas da Universidade Federal de São Paulo, de novembro de 2005 a abril de 2006. A pesquisa abrangeu 143 cidades brasileiras e, dentro delas, um total de 325 setores censitários, incluindo aqueles situados em áreas rurais. O estudo transversal foi realizado na casa dos participantes de pesquisa. Os resultados dizem que 6% dos participantes de pesquisa relataram o uso de etanol diariamente ou quase diariamente e 19% de uma a quatro vezes por semana, sendo esse uso de três a cinco vezes maior no sexo masculino. Entre os bebedores, 29% relatam que a quantidade usual consumida é de cinco unidades ou mais por ocasião, com frequência de 38% nos homens e 17% nas mulheres. Incluindo os abstinentes, o consumo excessivo episódico (5 ou mais unidades para homens e 4 ou mais unidades para mulheres em uma única ocasião nos últimos 12 meses) foi relatado por 28% dos participantes de pesquisa, com pelo menos uma ocasião de beber em excesso no ano anterior à entrevista. Esse consumo também foi mais frequente entre os solteiros e aqueles com maior renda (Laranjeira *et al.*, 2010).

A prevalência nacional em 2013 de consumo abusivo de álcool (ingestão e cinco ou mais doses de bebida alcóolica para homens e quatro ou mais para

mulheres, em uma única ocasião, nos últimos 30 dias anteriores à entrevista) foi de 13,7%, sendo superior no sexo masculino em comparação com as do sexo feminino, assim como na população adulta jovem quando comparado aos mais velhos (De Azevedo Barros *et al.*, 2016). Já no ano seguinte, segundo dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), no conjunto das 27 cidades, a frequência foi de 16,5%, mantendo-se superior entre homens (24,8%), quase 2,5 vezes maior e mais frequente entre os indivíduos de 25 a 34 anos, aumentando juntamente com o nível de escolaridade.

Entretanto, várias são também as evidências dos efeitos nocivos. Estudo de corte transversal realizado com dados da pesquisa sobre Violências e Acidentes em Unidades de Urgência e Emergência (VIVA Inquérito), no ano de 2012 em 24 capitais brasileiras e Distrito Federal, concluiu que 14,9% dos atendidos por causas externas declararam ter consumido bebida alcóolica nas horas anteriores à ocorrência (Mascarenhas *et al.*, 2015). No triênio de 2010 a 2012, foram registradas anualmente no Brasil, quase 20 mil mortes nas quais o consumo de álcool foi a condição necessária para sua ocorrência, sendo que as doenças do fígado foram a causa de mais da metade das mortes analisadas e cerca de 90% incidiram sob o sexo masculino (Garcia *et al.*, 2015). Ressalta-se que pessoas com menor nível socioeconômico parecem ser mais vulneráveis aos problemas sociais ou ambientais e às implicações do alto consumo de álcool (Grittner *et al.*, 2012). Outro estudo demonstrou que os consumidores excessivos e frequentes são duas vezes mais prováveis que os abstêmios de apresentar distúrbios depressivos ao longo da vida e esse fator não está restrito às faixas etárias mais jovens (Silveira *et al.*, 2012).

A importância de estudar o álcool na saúde cardiovascular é que ele tem um impacto positivo ou negativo, a depender do tipo de bebida alcóolica e quantidade consumida. Alguns estudos tem avaliado o efeito benéfico do álcool sobre os lipídios sanguíneos, principalmente o HDL-colesterol (Gaziano *et al*., 1993). Embora menos frequente, a diminuição do LDL-colesterol também tem sido relatada, além do efeito nos níveis de triglicerídeos (Patsch *et al*., 1992; Rimm *et al*., 1999).

1.3. A determinação de lipoproteínas pelo Vertical Auto Profile (VAP)

O *Vertical Auto Profile test* (VAP) é mais detalhado que um teste de colesterol típico ou um perfil lipídico. Ele inclui medidas que atendem a novas metas no

tratamento de colesterol e que podem ser preferidas para aqueles que desejam monitorar o tratamento de dislipidemias. É mais útil em identificar pessoas em risco de desenvolver DCV (Kulkarni, 2006). O VAP foi desenvolvido por pesquisadores em Birmington, Alabama nos Estados Unidos da América e foi introduzido comercialmente pela Atherotech, Inc. O teste foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) em 2007.

O teste de colesterol tradicional funciona com o sangue em uma centrífuga de alta velocidade para separa os lipídeos. Este teste padrão, denominado perfil lipídico, distingue três categorias para lipídeos, utilizando uma fórmula específica. As categorias de lipídeos utilizando testes tradicionais são:

1. Lipoproteínas de alta densidade (HDL-colesterol);
2. Lipoproteínas de baixa densidade (LDL-colesterol); e
3. Triglicerídeos: a principal forma de gordura no corpo.

No entanto, quase metade das pessoas que tiveram Infarto Agudo do Miocárdio, o perfil lipídico padrão não revela anormalidades. De acordo com a Atherotech, o VAP é capaz de identificar de forma mais sensível o dobro de indivíduos com risco de DCV em comparação com as técnicas tradicionais, utilizando medidas diretas de gorduras sanguíneas (Kulkarni, 2006).

O VAP categoriza o LDL-colesterol por tamanho relativo e também divide o HDL-colesterol em subclasses. Pesquisas recentes indicam que certos padrões de tamanhos nas partículas de LDL-colesterol podem indicar maior risco de DCV (Bogl et al., 2013). Enquanto que uma das subclasses de HDL-colesterol, como o HDL2-colesterol, é considerada particularmente protetora para as DCV (Hwang et al., 2019).

O VAP também mede alguns lipídeos sanguíneos que os testes tradicionais ignoram, como a lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL-colesterol); Lipoproteína de densidade intermediária (IDL-colesterol) e lipoproteína A. A medida de classes e subclasses lipídicas adicionais podem revelar mais informações sobre o risco de desenvolver doenças cardíacas que todos os testes tradicionais, como a turbidimetria e nefelometria (Kulkarni, 2006).

O VAP testa diretamente:

1. VLDL-colesterol total: Níveis elevados de VLDL-colesterol correspondem a um risco aumentado de doença cardíaca e diabetes;
2. Soma do colesterol total: Corresponde à soma dos níveis de HDL-colesterol; LDL-colesterol e VLDL-colesterol;
3. Não-HDL total: Corresponde à soma de apenas os níveis de LDL-colesterol e VLDL-colesterol; um valor mais alto indica um risco maior de DCV;
4. VAP B: Corresponde à apolipoproteína B100 ajuda a criar, transportar e fornecer LDL-colesterol e VLDL-colesterol às células, medir o Apo B ajuda a determinar o tipo e/ou a causa do colesterol sérico elevado (Jarauta et al., 2016);
5. Lipoproteína A (Lp(a)): Pesquisas sugerem que a Lp(a) é semelhante ao LDL-colesterol, sendo um fator de risco hereditário para a aterosclerose (Yeang, 2016);
6. IDL-colesterol: Uma lipoproteína de densidade intermediária, uma quantidade maior de IDL-colesterol é encontrada entre indivíduos com histórico familiar de diabetes;
7. LDL-colesterol real (LDL-real): Corresponde ao LDL-colesterol que está ligado à proteína C-reativa. Esse tipo de LDL-colesterol é encontrado no local das placas ateroscleróticas no corpo, que são uma das principais características da doença arterial coronariana e, ao se romperem, é o principal iniciador da angina instável (Jarauta et al., 2016);
8. LDL-colesterol estimado (LDL-e): Corresponde à soma de Lp(a), IDL-colesterol e LDL-colesterol;
9. Padrão de tamanho do LDL-colesterol: São três categorias – A, A/B ou B. No padrão A, as moléculas de LDL-colesterol são maiores e menos densas, facilitando a remoção do corpo. No padrão A/B há uma combinação de moléculas leves e densas, enquanto no padrão B, predominam moléculas de alta densidade. Indivíduos com partículas pequenas e densas de LDL-colesterol (predomínio de padrão B) têm um risco quatro vezes maior de desenvolver doenças cardíacas que indivíduos com predomínio de tamanho LDL-colesterol A (Blesso, 2018);
10. LDL-colesterol 1 (LDL-1): Correspondente ao LDL-colesterol pequeno e denso;

11. LDL-colesterol 2 e LDL-colesterol 3 (LDL-2 e LDL-3): LDL-colesterol grande, intermediário e flutuante.
12. HDL-colesterol 2 (HDL-2): Particularmente protetor para doenças cardíacas. Um número baixo indica um risco aumentado de DAC, mesmo em indivíduos com níveis adequados de colesterol (Hwang et al., 2019);
13. HDL-Colesterol 3 (HDL-3): Não tão protetora quanto a HDL-2;
14. VLDL-colesterol 3 (VLDL-3): Uma lipoproteína de densidade muito baixa rica em triglicerídeos. Alguns estudos sugerem uma correlação potencial entre números mais elevados de VLDL-3 e o desenvolvimento de diabetes mellitus (Andersen et al., 2017).

Ainda, o VAP pode identificar maior vulnerabilidade para a síndrome metabólica, uma combinação de fatores que podem elevar significativamente o risco do desenvolvimento de diabetes ou DCV.

1.4. Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil)

Em setembro de 2008, o Ministério da Saúde anunciou oficialmente o lançamento do maior estudo já desenvolvido na área de epidemiologia na América Latina, intitulada Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil). Criado a partir de uma chamada pública lançada em 2005 pelo Ministério da Saúde e pelo Ministério da Ciência e Tecnologia, é uma pesquisa pioneira sobre doenças crônicas (Departamento De Ciência E Tecnologia, 2009).

O ELSA-Brasil envolve um consórcio composto por seis instituições brasileiras de ensino e pesquisa. Compõe Consórcio ELSA-Brasil: a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), a Universidade Federal da Bahia (UFBA), a Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e a Universidade de São Paulo (USP).

Desde 2008 estão sendo examinados e monitorados 15.105 participantes de pesquisa, compostos por funcionários e docentes dessas instituições, compostos por homens e mulheres entre 35 e 74 anos. Os voluntários responderão questionários sobre condições gerais de saúde, história familiar de doenças, uso de medicamentos, saúde mental, nutrição, entre outros tópicos. Além disso, serão

submetidos a uma série de exames laboratoriais e físicos. Periodicamente, essas pessoas fornecerão informações sobre internações, doenças e cirurgias ocorridas e realizarão novos exames (Departamento De Ciência e Tecnologia, 2009).

O projeto iniciado em 2004 já se encontra na terceira fase de avaliação dos participantes. Os dados gerados terão impacto na definição de políticas públicas do Sistema Único de Saúde, ao descreverem a situação dos principais fatores de risco cardiovascular como hipertensão, diabetes e dislipidemia ao se caracterizar prevalência, conhecimento da situação e risco por parte do participante de pesquisa, tratamento e controle do fator de risco (Chor *et al.*, 2001). Além dos gestores, informações do ELSA-Brasil são e serão de enorme utilidade para várias especialidades médicas, ao se mostrar a distribuição de vários exames que são realizados no Brasil, com padrão de normalidade de outras populações. Neste caso, destacam-se as medidas de espessamento das camadas médio-intimal das artérias carótidas comuns, da velocidade de onda de pulso e determinação das subfrações lipídicas.

OBJETIVOS

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar a ingestão de energia, macronutrientes e álcool e sua relação com as subfrações de colesterol na primeira onda do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil).

2.2. Objetivos específicos

- Estimar o consumo de energia e macronutrientes e constatar a sua relação com as subfrações de colesterol (Manuscrito 1);
- Estimar o consumo de ácidos graxos e constatar a sua relação com as subtrações de colesterol (Manuscrito 1);
- Avaliar a associação do consumo de álcool nas subfrações de colesterol (Manuscrito 2);
- Avaliar o tipo da bebida alcóolica e quantidade ingerida de álcool nas subfrações de colesterol (Manuscrito 2);

METODOLOGIA

3. Metodologia

3.1. Delineamento e população do estudo

A presente tese utilizou dados procedentes do estudo de coorte denominado Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil). O ELSA-Brasil vem sendo realizado desde 2008 e, desde então, financiado pelo Ministério da Saúde, com o intuito de monitorar os fatores de risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Embora seja um estudo de coorte, a presente tese utiliza delineamento transversal, com dados da linha base, também denominada onda 1 realizada entre 2008 a 2010.

O ELSA-Brasil é uma coorte composta por 15,105 servidores de seis universidades brasileiras. Os dados de funcionários ativos e aposentados com idade de 35 a 74 anos dividem-se em:

- Universidade Federal da Bahia (UFBA) – (n=2.029);
- Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) – (n=1.055);
- Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) – (n=3.115);
- Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – (n=2.061);
- Universidade de São Paulo (USP) – (n=5.061) e
- Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) – (n=1.764).

No presente estudo avaliou somente os participantes de São Paulo porque foi o único local onde os participantes realizaram exame para determinar a dosagem de subfrações de colesterol por métodos não-convencionais.

A figura 1 mostra a quantidade de participantes elegíveis para o estudo nos dois estudos.

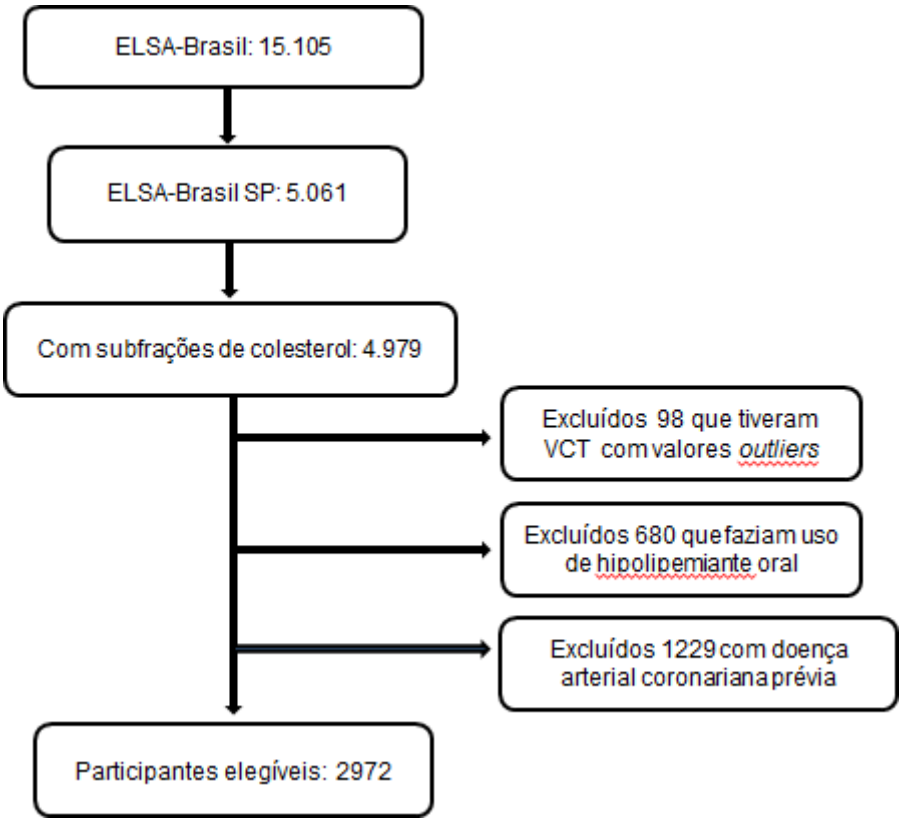
Os critérios de exclusão utilizados foram:

- Indivíduos que tiveram valores considerados *outliers* para Valor Calórico Total, correspondendo a valores abaixo do percentil 1 e acima do percentil 99 desta distribuição;
- Uso de hipolipemiante oral:
    - Estatina;
    - Resina sequestradora de ácido biliar;
    - Fibrato.

- Doença Arterial Coronariana prévia.
    - Ocorrência de angina instável;
    - Ocorrência de Infarto Agudo do Miocárdio;
    - Presença de insuficiência cardíaca;
    - Ocorrência de Cirurgia Cardíaca.

Os dados de Doença Arterial Coronariana prévia foram definidos pelo auto relato no questionário da linha de base do ELSA-Brasil.

Figura 1: Participantes do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil)



3.2. Instrumentos

3.2.1. Variáveis sanguíneas

De acordo com a Resolução CNS nº 441, de 12 de maio de 2011, biobanco é uma coleção organizada de material biológico humano e informações associadas, coletado e armazenado para fins de pesquisa, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais. E biorrepositório é uma coleção de material biológico humano, coletado e armazenado ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico, conforme regulamento ou normas técnicas, éticas e operacionais pré-definidas, sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais.

Desde as primeiras reuniões da equipe do estudo ELSA-Brasil, decidiu-se pelo desenvolvimento de um biobanco, que seria uma das principais características do estudo. Foi constituído um comitê responsável por idealizar os protocolos básicos dos laboratórios e do biobanco, composto por membros dos seis centros. As reuniões começaram dois anos antes do início da coleta de dados da linha de base (Pereira *et al.*, 2013). Os principais determinantes de implementação do biobanco foram:

1. Estocar diversos tipos de material biológico, considerando a quantidade de sangue a ser coletada de cada participante e os requisitos mínimos necessários em cada centro;
2. Garantir as melhores condições de estocagem possíveis para as alíquotas dos participantes de pesquisa;
3. Prover que cada centro fosse capaz de delinear e implementar suas próprias perguntas científicas para usar as amostras locais em cada centro;
4. Garantir a implementação dos protocolos de controle de qualidade, aliquotagem, transporte, acompanhamento das amostras e a estocagem em longo prazo.

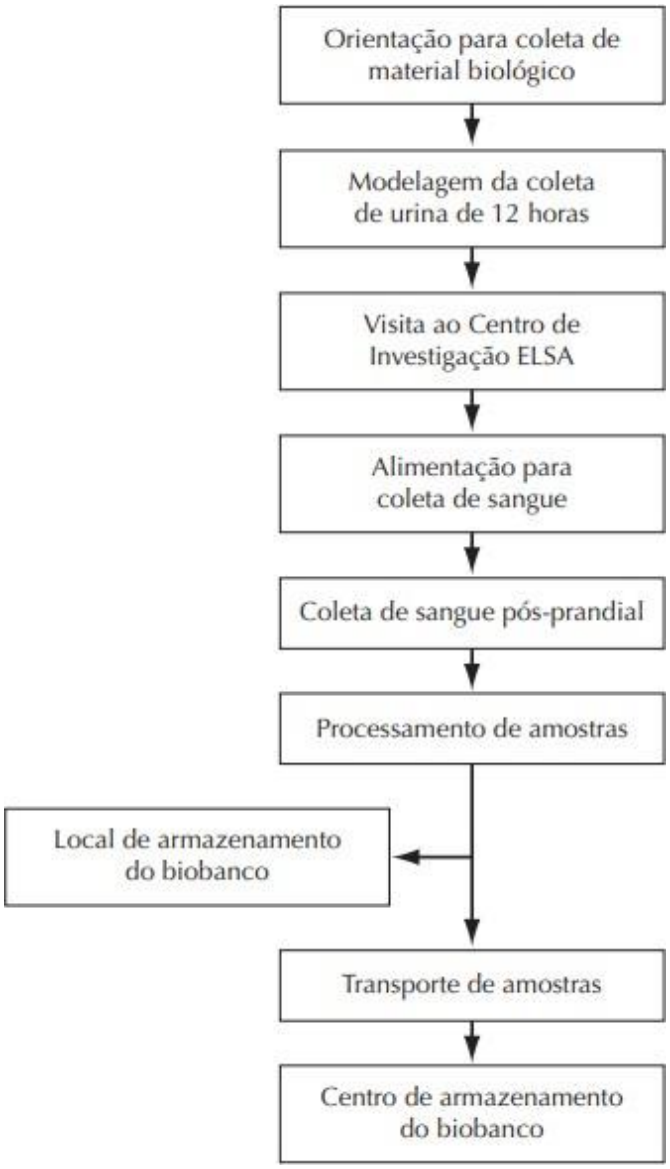
Foi instituído um biorrepositório central, que poderia estocar plasma, soro, urina e DNA. Foi estabelecido um sistema híbrido, composto por dois biorrepositórios centrais e um biorrepositório local em cada centro. O transporte de material biológico também foi uma preocupação central na criação do biorrepositório. As amostras são transportada para o laboratório central e/ou para o local de estocagem (biorrepositório local), mas o tempo de estocagem deveria ser

comparável entre as diferentes amostras e os diferentes centros (Pereira *et al.*, 2013).

A aprovação do projeto foi realizada em todos os Comitês de Ética e Pesquisa (CEP) local de cada centro e da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep). Novos projetos que utilizam o material estocado devem ser submetidos ao Comitê de Estudos Ancilares, ao CEP e à Conep, sob número de registro na Conep de B-008.

A Figura 2 mostra a organização geral do protocolo do biorrepositório.

Figura 2: Organização geral do protocolo do biorrepositório



Cada centro participante teria um biorrepositório local com parte das alíquotas recrutadas em cada um desses centros (Tabela 1). Essas alíquotas são estocadas em freezers a -80ºC. Os biorrepositórios locais foram desenhados para garantir a disponibilidade de amostras para projetos restritos aos centros locais (estudos sorológicos específicos de um centro em particular, ou biomarcadores específicos de um centro em particular com tradição ou expertise na área) (Pereira *et al.*, 2013).

Tabela 1: Alíquotas disponíveis ao final da linha de base do estudo, para cada participante de pesquisa

	Soro (jejum)	Plasma EDTA (jejum)	Plasma citrato (jejum)	Plasma heparina (jejum)	Urina	Soro (pós-prandial)	Plasma heparina (pós-prandial)
Criotubos (biobancos locais)	3	3	2	1	2	2	1
Palhetas (biobanco central)	6	6	4	2	4	4	2

O centro de estocagem de material biológico que manteve grande diversidade de amostras biológicas de todos os participantes de estudo, independentemente do centro de investigação em que o participante de pesquisa foi recrutado foi o de São Paulo, que tem uma tradição maior na área de análises clínicas, localizado dentro do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (Fedeli *et al.*, 2013).

O Laboratório do Hospital Universitário possui Sistema de Gestão de Qualidade implantado, com certificação ISO 9001/2000 desde 11/04/2006, acreditado pelo Programa de Acreditação de Laboratórios Clínicos em 18/12/2009 (2005) e participa de programa de Proficiência Interlaboratorial. Conta ainda com Programa de Controle de Qualidade Interno com pelo menos dois níveis de controle para cada analito, com equipamentos automatizados de alto desempenho e equipe de profissionais qualificados que garantem a qualidade dos exames realizados (Fedeli *et al.*, 2013).

O treinamento centralizado e a certificação da equipe envolvida na coleta de material em cada local foram realizados em São Paulo. Foram utilizadas técnicas padronizadas para a coleta de sangue em um sistema *vacutainer*. De cada participante de pesquisa, foi colhida uma amostra de sangue em jejum e outra pós-

prandial. Em jejum foram colhidos três tubos EDTA de 3,5mL, três tubos com gel ativador para separação do soro de 4,0 mL, dois tubos com citrato, um tubo de fluoreto/oxalato, um tubo de heparina e um tubo de 7,0 mL de urina. No período pós-prandial, foram colhidos um tubo com gel ativador para separação de soro de 4,0 mL, um tubo com heparina e outro com citrato, sempre utilizando o sistema *vacutainer (Pereira et al., 2013)*.

Após a coleta de sangue e urina, iniciou-se o processo detalhado de aliquotagem das amostras. Todas as amostras foram processadas na mesma área da coleta para prevenir problemas de estabilidade das amostras devido ao transporte local antes do seu processamento. As amostras foram mantidas em gelo e foram centrifugadas até no máximo 30 minutos da coleta (Pereira *et al.*, 2013).

Depois da centrifugação refrigerada, as amostras foram aliquotadas. As primeiras alíquotas foram destinadas aos exames laboratoriais. Depois, uma quantidade suficiente de material biológico foi utilizada para a realização dos exames pré-definidos da linha de base (Fedeli *et al.*, 2013) e o restante das alíquotas foram destinadas à estocagem de material biológico.

A transferência das amostras biológicas congeladas em gelo seco de ceada centro de pesquisa para o biorrepositório central foi realizada mensalmente. Foram utilizadas nesse transporte caixa de isopor com gelo seco seguindo a regulamentação da *International Air Transport Association* (IATA). Para cada transporte foram monitorados o recibo e as condições de chegada das amostras biológicas (Pereira *et al.*, 2013).

Além dos biorrepositórios locais, o ELSA-Brasil implementou um centro de criogenia completo com capacidade de estocar em vapor amostras biológicas dos participantes de pesquisa. Este sistema de estocagem em nitrogênio líquido mantém a temperatura em um nível significativamente mais estável (-196ºC), proporciona uma rápida queda da temperatura e taxa de recuperação, para o tamanho do biorrepositório do ELSA-Brasil, um custo de manutenção significativamente menor. Além disso, o sistema de nitrogênio líquido tem menos componentes mecânicos e elétricos quando comparado a uma solução baseada em freezers, o que os torna menos sensíveis a panes mecânicas ou elétricas (Owen e Woods, 2008).

Uma empresa foi comissionada para prover toda a infraestrutura do sistema que incluiu projeto, gerenciamento da obra, materiais necessários para a construção e instalação dos tanques, tanque externo, rede hidráulica a vácuo com isolamento,

tanques de alta capacidade para estocagem de amostras em longos períodos em vapor de nitrogênio com sistema de abastecimento automático e todos os programas locais para controle à distância necessários ao seu funcionamento (Pereira *et al.*, 2013).

As amostras foram acomodadas dentro de tanques em pequenos canudos de polipropileno. Eles foram acomodados em caixas e as caixas em racks desenhados para acomodá-los dentro dos tanques. As palhetas são menores e economizam espaço se comparados aos criotubos. As palhetas possuem um sistema de selamento que impede a infiltração de nitrogênio nas amostras (nitrogênio líquido penetra pela rosca dos criotubos, mas não consegue penetrar na palheta selada) e estão disponíveis em várias cores que correspondem a um tipo específico de fluido biológico (Pereira *et al.*, 2013).

Outra consideração importante é a capacidade desse sistema de detectar falhas regularmente, e na detecção de uma falha, notificar a equipe para pronta correção do erro. Nesse sentido, o sistema planejado tem a capacidade de identificar qualquer tipo de mau funcionamento em cada parte do sistema, assim como problemas dentro da estrutura da central de criogenia (temperatura, ventilação, entre outros) ou o funcionamento inadequado do sistema hidráulico de vasos comunicantes de transporte de nitrogênio. Na presença de qualquer inadequação de funcionamento, o sistema envia e-mails ou telefonemas imediatamente após a detecção para toda a equipe, que monitora a central de criogenia; ou, na ausência de alguma alteração, segue uma mensagem de rotina informando que tudo estão funcionando regularmente (Pereira *et al.*, 2013).

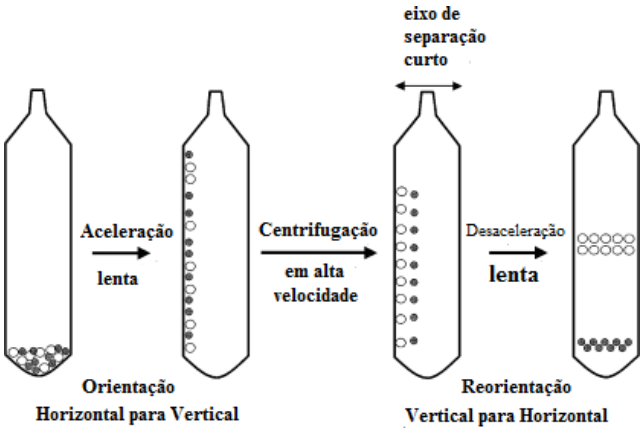
3.2.1.1. Variáveis lipídicas

As amostras sanguíneas foram processadas, separadas por soro, refrigeradas e enviadas para o biorrepositório central (Universidade de São Paulo). Os espécimes de soro foram divididos em alíquotas e armazenados congelados. O perfil de lipoproteínas foi medido pelo *Vertical Auto Profile* (VAP) (Kulkarni, 2006), que separa rapidamente as lipoproteínas de acordo com a sua densidade por ultracentrifugação. Foram avaliadas todas as classes de lipoproteína disponíveis a partir do VAP: HDL-colesterol, LDL-real (LDL-colesterol sem a Lipoproteína A e

Lipoproteína de Densidade Intermediária), VLDL-colesterol, Lipoproteína de Densidade Intermediária (IDL-colesterol) e Lipoproteína A e as subfrações (HD2-colesterol, HDL3-colesterol, LDL1-colesterol, LDL2-colesterol, LDL3-colesterol, LDL4-colesterol, VLDL1-colesterol, VLDL2-colesterol e VLDL3-colesterol). Além da soma do IDL-colesterol com o VLDL3-colesterol, que correspondem aos remanescentes ricos em triglicerídeos. Esta soma não é medida na prática clínica, mas estudos indicam que é um importante marcador da aterosclerose, ao invés dos triglicerídeos sozinhos (Martin et al., 2015).

Diferentemente de outros métodos de ultracentrifugação que demoram de horas a dias para separar as lipoproteínas individualmente, o VAP separa todas as lipoproteínas em menos de 1 hora. Essa pequena duração se dá pelo rotor vertical que separa as lipoproteínas pelo eixo horizontal menor do tubo de centrifugação, ao invés do eixo vertical longo (Kulkarni, 2006) (Figura 3).

Figura 3: Rotação única de separação de gradiente de densidade

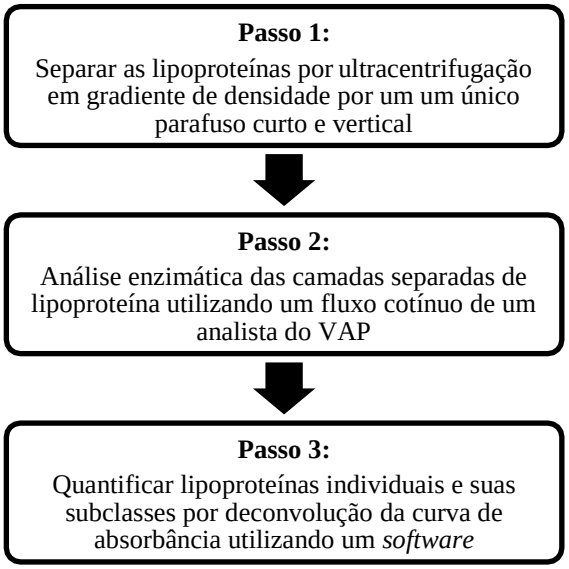


Fonte: traduzido de Kulkarni, 2006.

O procedimento do VAP tem três passos (figura 4). Um gradiente de duas camadas de densidade é preparado dentro do tubo da centrífuga dispensando uma quantidade de solução salina de 1,006g/mL. Todas as diluições e dispensas de soluções são feitas de maneira controlada. Dezesseis tubos de centrifugação com dois gradientes de densidade com duas camadas são centrifugados utilizando um rotor vertical Beckman Vti-65 em uma ultracentrífuga (Palo Alto, California) Beckman

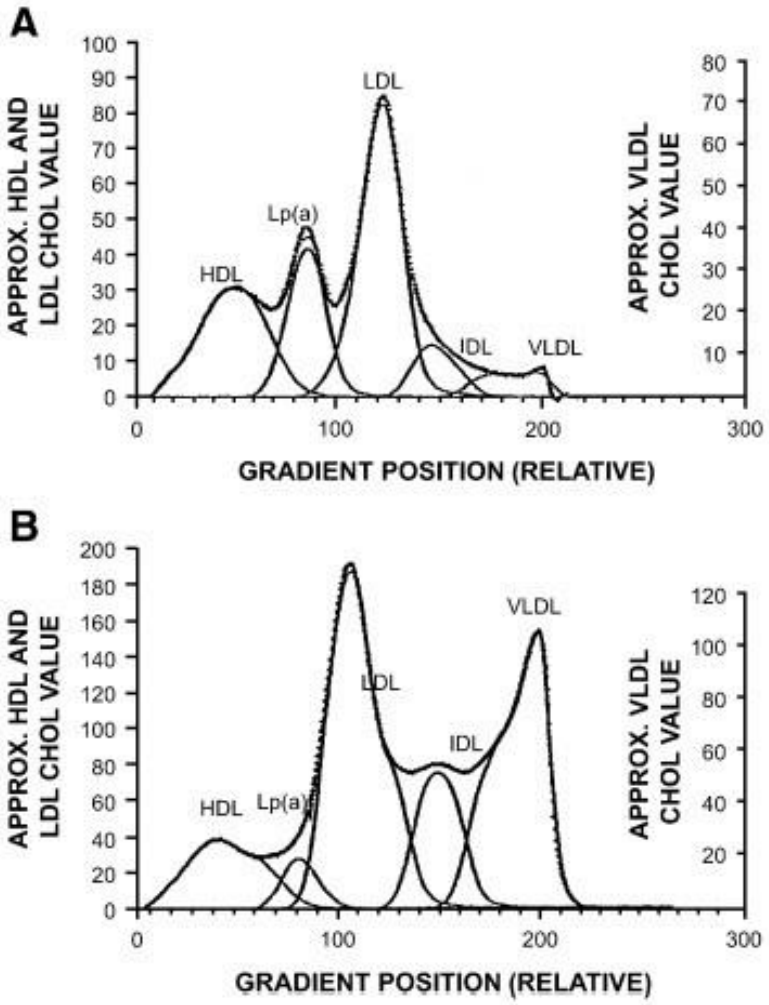
Coulter Optima XL-100K por 45 minutos a 65.000 rpm (Kulkarni *et al.*, 1994). Depois da centrifugação, os conteúdos do tubo de centrifugação (camadas separadas de lipoproteínas) são analisados para colesterol utilizando um fluxo contínuo do analisador VAP. Dois exemplos de VAP do resultado VAP podem ser vistos na figura 5.

Figura 4: Os passos envolvidos no teste Vertical Auto Profile (VAP)



Fonte: traduzido de Kulkarni, 2006.

Figura 5: Dois exemplos de VAP. A área embaixo da curva contínua (curva pontilhada), mostrando cinco classes de picos de lipoproteína (HDL-colesterol, Lp(a), LDL-colesterol, IDL-colesterol e VLDL-colesterol), corresponde ao colesterol total. As áreas abaixo das cinco curvas sólidas individuais correspondem às concentrações de HDL-colesterol, Lp(a), LDL-colesterol, IDL-colesterol e VLDL-colesterol determinadas pela deconvolução da curva contínua principal. (A) Perfil do colesterol de um paciente que tem Lp(a) elevado. (B) Perfil do colesterol de um paciente com IDL-colesterol elevado.



Fonte: traduzido de Kulkarni, 2006.

3.2.2. Avaliação dietética

As variáveis dietéticas foram coletadas a partir de dados de um Questionário de Frequência Alimentar (QFA) validado previamente para este fim. O QFA é um método de avaliação alimentar semiquantitativo, contendo 114 itens alimentares com o objetivo de avaliar o consumo habitual dos participantes de pesquisa nos últimos 12 meses. O questionário foi construído a partir de um QFA desenvolvido e validado no Brasil na década de 1990, com lista de alimentos baseada em dados de inquéritos populacionais realizados na década de 1980. O QFA do ELSA-Brasil foi desenvolvido com base em estudo prévio dos seis centros de investigação. Foram aplicados cem recordatórios de 24 horas (R24h) em indivíduos não elegíveis para o estudo, porém com características semelhantes às dos participantes ELSA-Brasil

(mesma faixa etária, sexo e local de trabalho) (Anexo I). Entrevistadores treinados aplicaram 50 R24h em indivíduos com nível de escolaridade superior e 50 com Ensino Fundamental completo. Entre os R24h adequadamente avaliados, metade era relativa a um dia da semana (segunda a sexta-feira) e a outra metade a um dia de final de semana (sábado ou domingo). Para padronizar a aplicação dos R24h, foi elaborado um protocolo específico com manual de instruções, tendo sido utilizado, durante a sua aplicação, um álbum fotográfico de porções de alimentos e utensílios alimentares. Após análise, foram obtidas frequências para itens registrados nos formulários. O anexo 1 mostra o QFA utilizado no estudo e o anexo 2 o álbum fotográfico utilizado (Molina, M. E. C. *et al.*, 2013).

A lista preliminar de alimentos do QFA ELSA-Brasil continha, além dos alimentos da versão original, alimentos e preparações e bebidas registradas nos R24h (como arroz e feijão), com frequência de consumo maior que 10%. Posteriormente, foi avaliada a inclusão dos alimentos típicos ou comuns em cada estado do estudo e por decisão dos pesquisadores, foram incluídos até dois itens regionais ou marcadores de consumo diferenciado, como comida baiana e acarajé (Bahia), chimarrão e cuca (Rio Grande do Sul), cuscuz paulista e comida japonesa (São Paulo), feijoada (Rio de Janeiro), pão de queijo e feijão tropeiro (Minas Gerais) e moqueca capixaba e banana da terra frita (Espírito Santo) (Molina, M. E. C. *et al.*, 2013).

O QFA ELSA-Brasil está estruturado em três seções: (1) alimentos/preparações, (2) medidas de porções de consumo e (3) frequências de consumo, com oito opções de resposta: "mais de 3 vezes ao dia", "2-3 vezes ao dia", "1 vez ao dia", "5-6 vezes ao dia", "2-4 vezes na semana", "1 vez na semana", "1-3 vezes ao mês" e "nunca/quase nunca". Os participantes foram questionados por meio da leitura de uma lista de alimentos que consumiram habitualmente nos últimos 12 meses e estimulados a responder quantas vezes o consumo se deu por dia, semana ou mês. Um cartão de respostas com as opções de frequência de consumo era dado ao participante e explicado o seu uso a fim de facilitar sua escolha, sem necessidade de memorização. Esse procedimento foi adotado para a aplicação de várias escalas de questionário do ELSA-Brasil; sua formatação, incluindo o tipo e tamanho de letra e papel, foi padronizada em todos os centros de investigação. Um kit de utensílios padronizado foi incorporado no momento de aplicação do QFA,

também em todos os centros, para facilitar a identificação das medidas caseiras (Molina *et al.*, 2013).

Pelo QFA, foi possível avaliar a ingestão energética diária em quilocalorias e a ingestão de nutrientes utilizando o banco de dados para pesquisa do Sistema de Dados de Nutrição da Universidade de Minnesota, os alimentos tipicamente brasileiros foram avaliados pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Para tal, foram calculadas as gramas por dia de cada item de alimentos do QFA pela quantidade de porções consumidas por dia x o peso (porção padrão em gramas) x a frequência do consumo. Valores extremos de consumo foram excluídos (< 892Kcal e > 6442 Kcal, correspondendo aos percentis 1 e 99, respectivamente). A ingestão e nutrientes foram ajustadas por energia, de acordo com o preconizado pelo método de resíduos (Willett et al., 1997).

As variáveis dietéticas consideradas foram valor energético/calórico total carboidratos, proteínas, lipídeos geral, colesterol dietético, ácidos graxos saturados, ácidos graxos monoinsaturados, ácidos graxos poli-insaturados, ácido graxo linolênico e ácido graxo linoleico. Todas as variáveis dietéticas foram ajustadas pelo valor energético total.

3.2.3. Consumo de álcool (CAL)

O questionário do ELSA-Brasil foi composto por perguntas relacionadas à saúde, dentre elas, as referentes ao consumo de bebidas alcóolicas. As perguntas sobre consumo de álcool (CAL) visam conhecer o padrão de ingestão de bebidas com questões relacionadas ao tipo (cerveja, vinho, destilado) e frequência de ingestão (semanal, mensal ou rara) (Chor *et al.*, 2013). O anexo II mostra o CAL utilizado neste estudo.

O CAL, estruturado com perguntas fechadas, foi baseado no questionário do *National Center for Health Statistics*. Também foi questionado sobre a frequência de consumo de bebidas alcóolicas junto às refeições. Considerou-se como dose de vinho tinto e vinho branco uma taça (135 mL); de cerveja uma lata/*longneck* (350 mL) e, duas doses, uma garrafa (620 mL) e uma dose (50 mL) de uísque, cachaça e vodka para as bebidas destiladas. Para o cálculo da quantidade de etanol em gramas, utilizou-se a graduação alcóolica média das marcas de bebidas mais comuns do mercado: cerveja = 6%, vinho (tinto ou branco) = 12% e aguardente =

39%. Primeiramente, multiplicou-se a quantidade de álcool puro em mL/semana, de acordo com a concentração alcóolica de cada bebida. Posteriormente, foi obtida a quantidade de álcool consumida a partir de qualquer bebida, sendo multiplicada pela densidade de álcool (0,8) a fim de se obter a quantidade total de etanol puro em gramas por semana. Esta metodologia é a preconizada na literatura.

Para caracterizar os bebedores excessivos, foram considerados os homens e as mulheres com consumo de etanol igual ou superior a 210 g/semana e 140 g/semana, respectivamente (Wakabayashi, 2008). Enquanto os bebedores moderados foram os que relataram consumir álcool de 0g/semana até essa quantidade. Foram considerados abstêmios os indivíduos que consumiram 0g de álcool por semana. A frequência do consumo de bebida alcóolica junto às refeições foi avaliada com a pergunta "Do total de bebidas alcóolicas que o(a) Sr(a) consome, com que frequência o(a) Sr(a) ingere junto às refeições?", e analisou as respostas como: "Mais frequentemente com as refeições", "Com e fora das refeições" e "Mais frequentemente fora das refeições". Os consumidores excessivos que pararam de beber não foram avaliados por não ser o objetivo deste estudo.

3.3. Ética em pesquisa

Embora a ética em si não faça parte diretamente de estudos de nutrição, consumo de álcool ou variáveis sanguíneas, em se tratando de pesquisas com seres humanos, essa discussão está sempre presente.

Para o presente estudo, todos os participantes de pesquisa assinaram e preencheram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (anexo V). À época da primeira onda do estudo, o protocolo de pesquisa atendeu à Resolução CNS nº 196/96 e as outras complementares, como a Resolução CNS nº 346/05, referente a Projetos Multicêntricos e à Resolução CNS nº 347/05, referente ao Armazenamento de Materiais Biológicos. O estudo foi aprovado em todos os Comitês de Ética em Pesquisa das instituições envolvidas na pesquisa e, por se tratar de área temática especial, também foi aprovado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde (Conep). Essa tramitação se iniciou em maio de 2006 e durou pouco mais de cinco meses, com duração média de 36 dias em cada centro até a aprovação final.

O processo de aprovação de biobanco é diferente do processo de aprovação de protocolos de pesquisa. Foi solicitada a criação de biobanco sob número de registro B-008, mas após audiência com a Conep, foi decidido pela criação de biorrepositório (Anexo IV). O cadastro do protocolo de pesquisa no CEP do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo é 659/06, conforme anexo III. Até 2012, o registro de pesquisas envolvendo seres humanos era o Sistema Nacional de Ética em Pesquisa (SISNEP). A partir do dia 15 de Janeiro de 2012, o registro passou a ser feito pela Plataforma Brasil. O ELSA-Brasil possui registro em ambos: o Cadastro SISNEP é 93920 e o número CAAE, referente à Plataforma Brasil é 0016.1.198.000-06.

No Termo de Consentimento Livre e Esclarecido é utilizada a opção "Declaro concordar que as amostras de sangue e urina colhidas no início da pesquisa e nesta data sejam armazenadas para análises futuras sobre as doenças crônicas em estudo, não sendo necessário que eu seja consultado/a toda a vez em que forem utilizados de acordo com os objetivos definidos no protocolo original da pesquisa", permitindo a utilização desses dados. De forma a proteger o participante de pesquisa, o banco de dados do ELSA-Brasil é organizado por número de registro ID, não sendo possível identificar as informações pessoais dos mesmos. Para a análise deste trabalho, foi feita mais uma senha, sendo impossível rastrear os dados pessoais dos participantes de pesquisa.

3.4. Variáveis de estudo

As variáveis estudadas em cada manuscrito que compõe a presente tese encontram-se descritas em seguida conforme tabelas 2 e 3.

3.4.1. Primeiro manuscrito – *Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults. The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)*

Tabela 2: Variáveis de estudo segundo o manuscrito (1º manuscrito), ELSA-Brasil 2019. São Paulo. Brasil

Variável	Descrição

Sexo	masculino, feminino
Faixa etária	< 60 anos, ≥ 60 anos
Etnia auto-declarada	Branco, pardo, negro
Anos de educação	3-7 anos, 8-11 anos, ≥ 12 anos
Salário mínimo	< 1244, > 1245
IMC	< 25Kg/m², 25- 29,9Kg/m² e > 30Kg/m²
Atividade física ao lazer	Inativo, moderado, ativo
Alcoolismo	Abstêmio, moderado, excessivo
Tabagismo	Nunca, ex-tabagista, tabagista
Variáveis dietéticas	
Energia	Kcal/d
Proteína	%
Carboidrato	%
Gordura	%
Ácido graxo saturado	%
Ácido graxo monoinsaturado	%
Ácido graxo poliinsaturado	%
Ácido linoléico	g/d
Ácido linolenico	g/d
Variáveis sanguíneas	
HDL-colesterol	mg/dL
HDL2-colesterol	mg/dL
HDL3-colesterol	mg/dL
IDL-colesterol	mg/dL
IDL-colesterol+VLDL3-colesterol	NA
LDL-colesterol	mg/dL
LDL1-colesterol	mg/dL
LDL2-colesterol	mg/dL
LDL3-colesterol	mg/dL
LDL4-colesterol	mg/dL
Não-HDL-colesterol	mg/dL
LDL-estimado (LDL-R+Lp(a)+IDL)	mg/dL
VAP A1	NA
Apolipoproteína 1	NA
VAP B	NA
Apolipoproteína B	NA
VLDL3	NA
VAP B/VAP A	NA
Lipoproteína A	mg/dL

NA: Não se aplica.

3.4.2. Segundo manuscrito – Perfil Lipídico e Consumo de Bebida Alcóolica: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil)

Tabela 3: Variáveis de estudo segundo o manuscrito (2º manuscrito). ELSA-Brasil 2019. São Paulo. Brasil.

Variáveis sanguíneas	
HDL-colesterol	mg/dL
HDL2-colesterol	mg/dL
HDL3-colesterol	mg/dL
IDL-colesterol	mg/dL
IDL-colesterol+VLDL3-colesterol	NA
LDL-colesterol	mg/dL
LDL1-colesterol	mg/dL
LDL2-colesterol	mg/dL
LDL3-colesterol	mg/dL
LDL4-colesterol	mg/dL
Não-HDL-colesterol	mg/dL
LDL-estimado (LDL-R+Lp(a)+IDL)	mg/dL
VAP A1	NA
Apolipoproteína 1	NA
VAP B	NA
Apolipoproteína B	NA
VLDL3	NA
VAP B/VAP A	NA
Lipoproteína A	mg/dL
Triglicerídeos	mg/dL

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. Resultados e discussão

4.1. Primeiro manuscrito - *Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults. The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)*

Nutrition Journal

Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults.

The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)

--Manuscript Draft—

Title: Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults. The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)

Authors: Ludmila Macêdo Naud[1,2]; Dirce Maria Lobo Marchioni[2]; Isabela Judith Martins Benseñor[2,3]; Paulo Andrade Lotufo[2,3]

[1] Brazilian Health Ministry; [2] Faculty of Public Health, University of São Paulo; [3]Faculty of Medicine, University of São Paulo

Correspondence: ludmilanaud@gmail.com

Other authors: dircemarchioni@gmail.com, isabenseneor@gmail.com, paulolotufo@gmail.com

Abstract

Background: Epidemiological studies have demonstrated the importance of fat intake in development of cardiovascular disease, however there is no literature consensus on relation of dietary fatty acids with circulating levels in plasma. The objective of this work was to evaluate the association of macronutrients and fatty acids intakes with lipoprotein subfractions in the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSABrasil).

Methods: A cross-sectional analysis with 2972 individuals from the ELSA-Brasil was performed. Demographic, socioeconomic, lifestyle and anthropometric data, biochemical measurements and a Food Frequency Questionnaire was collected

and assessed. Spearman´s correlation was employed to determine the relationship between plasma and dietary measurements and canonical correlation was performed to verify the association between the two groups.

Results: Low correlation was observed between all dietary macronutrients and fatty acid intakes with circulating fatty acids for Spearman's and canonical correlation. Correlations ranged from r = -0.188, p = <0.001 for total energy value and LDL-2 and r = 0.138, p = 0.001 for total energetic value and LDL-3.

Conclusion: Weak association was found between dietary fatty acids intake and lipid profile. Further studies should be performed to verify the association between diet and lipid profile.

Keywords: fatty acids; cardiovascular diseases; dietary intake; diet.

Background

Epidemiological studies have demonstrated the importance of fat intake in cardiovascular disease development (1). Dietary polyunsaturated fatty acids have been increasingly linked with health benefits and lower risk of cardiovascular diseases, diets with high energy density and rich in saturated fats consist in cardiovascular risk factors (1).

The cardioprotective mechanism of polyunsaturated fatty acids may be attributed to their ability to lower blood pressure, inhibit inflammatory and atherosclerotic abilities (2), while the results of the relationship between saturated fatty acids and cardiovascular diseases are still controversial (3). As the methods to estimate dieting are based on self-filled questionnaires and they are due to be collected with several errors, some specific biochemical markers have been used as a surrogate to measure the dietary intake of selected nutrients or dietary components in epidemiological studies (4). Not only diet can interfere with the concentration of subfractions of cholesterol, genetics, age and sex can also influence their values (5). Currently there is no consensus in the literature on relation of dietary fatty acids with circulating levels in plasma (1).

We aim to evaluate the association of macronutrients and fatty acids intake with lipoprotein cholesterol profile in a sample of apparently healthy adults enrolled in the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) (6).

Methods

Study design and population

ELSA-Brasil is a cohort with 15,105 participants aged 35-74 years in six Brazilian cities. (6). Briefly, among 15105 participants who were evaluated in 2008-10, 4979 of them had lipid profile measured by vertical-density ultracentrifugation (Vertical Auto Profile (VAP)) (7). As the focus was to investigate a dietary association with the lipid profile, participants who did not complete the Food Frequency Questionnaire (FFQ) were excluded. It was also excluded people who reported had changed their diet in the last six months and who took lipid-lowering medication totaling 2972 participants for this study. The study was approved by the local ethic committees and all participants provided written informed consent.

Dietary variables

Habitual food consumption of the participants was obtained through Food Frequency Questionnaire (FFQ), developed and validated for this purpose (7). The FFQ ELSA-Brasil is a semiquantitative questionnaire composed of 114 items, whose objective is to evaluate the habitual consumption in the last 12 months. We obtained daily energy intake in kilocalories and nutrient intake using University of Minnesota Nutrition Data System for Research database. For these determinations, we calculated the grams/day for each food item from the FFQ as the quantity of servings consumed/day x weight (standard portion in grams) x frequency of consumption. The extreme consumption values (< 892Kcal and > 6442Kcal, corresponding to percentiles 1 and 99, respectively) were excluded. Nutrient intake was adjusted by energy accordingly to the residual method (8).

Lipoproteins and LDL subclass measurement

Blood collection was obtained from participants after nocturnal fasting. Samples were centrifuged at the site and stored in tubes at -80ºC. A complete lipoprotein profile, which included plasma total cholesterol, HDL, HDL2, HDL3, Lp(a),

LDL-R [the LDL cholesterol without IDL and LP(a)], IDL and VLDL for each subject, was determined using Vertical Auto Profile methodology (Atherotech®, Birmingham, Alabama, USA). VAP is a single test direct measurement method, with no estimations involved. It is based on a combination of a rapid (45 minutes) single vertical spin ultracentrifugation and a novel continuous flow enzymatic cholesterol analyzer. VAP is highly sensitive and reproducible.

Analysis of LDL subclass cholesterol profile was performed using the LDLVAP- method, which is a modification of VAP procedure designed to separate LDL subclasses. The LDL subclasses ranged from LDL1 to LDL4.

Other study variables

Each participant answered an interview in the São Paulo center according to a standard protocol. Interviews and examinations were done by trained interviewers within a rigid quality control (6). Questionnaires included age, schooling years (elementary school – 3-7 years, secondary school – 8-11 years and complete higher education - > 12 years), self-referred ethnicity (white, mixed, black), smoking (never smoked, ex-smoker and current smoker), leisure physical activity (inactive, moderate active and active) using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ-Long Form (7)). To evaluate the consumption of alcoholic beverages (beer, wine, spirits – rum, whiskey, cachaça and vodka), we used the Alcohol Use Questionnaire, which was structured with closed questions based on the questionnaire of the National Center for Health Statistics. The drinking pattern and weekly frequency of alcohol consumption in beverages was determined with this instrument (7).

For the calculation of ethanol amount in grams, the average alcoholic percentage of the most common beverage brands on the market was used: beer=6%; wine= 12% and spirits= 39%. First, the amount reported weekly by the equivalent measurement in mL was determined. Then the amount of pure alcohol intake in mL/week was calculated according to alcoholic concentration of each beverage. Subsequently they were added to the amount of alcohol consumed and kinds of beverage and lastly multiplied by the density of ethanol (0.8) in order to obtain the total amount of pure ethanol in g/week. Excessive drinkers were categorized as those with an ethanol consumption >210 and >140g/week, for men and women, respectively (9).

Weight was measured by a digital scale calibrated at 0.1Kg (Toledo®. Columbus, Ohio, US). Height was measured with a coupled state on the wall calibrated at 0.1cm (Seca® Hamburg, Germany). Nutritional status was determined by Body Mass Index formula (Kg/m²) and classified according to World Health Organization recommendations. Results were grouped in Normal Weight (IMC < 25Kg/m²), Overweight (25 – 29,9Kg/m²) and Obese (> 30Kg/m²).

Statistical Analyzes

Normality analyzes were tested using Kolmogorov-Smirnov test. Spearman correlation coefficient was performed to access dietary and plasma fatty acid measurements correlation. At next, we employed a multivariate analysis called canonical correlation to examine the relationship structure between food intake (10 variables) and blood variables (21 variables) collected by VAP method, containing 21 variables on blood group and the other group contain

Canonical correlation generates the minimum between the two groups of latent variables, in this case it generated 10 correlations. Canonical coefficient 1 (CCA1) and canonical coefficient 2 (CCA2) represent the highest correlations of blood variables with dietary variables.

SPSS version 17 software was used for all statistical analyzes and p-value < 0.05 was considered significant.

Results

Most of participants were adult women (52%), with self-declared white race (63%), approximately 45% with university degree (> 12 years of study), 41% with a diagnosis of nutritional status of overweight, 77% physical inactive, with no alcohol consumption (41%) and had never smoked (52%) (Table 1).

Table 2 shows the dietary intakes of nutrients among participants. Approximately 17% of energy was derived from protein, 56% of energy was supplied by carbohydrate, and 27% of energy was from total fat. Participants obtained on average 9% of energy from saturated fatty acids, 8% of energy from monounsaturated fatty acids, and 7% of energy from polyunsaturated fatty acids. The linolenic acid and linoleic acid ratio was 1:6.

The results of correlation analyses between dietary intake and lipoprotein subclasses are reported in Table 3. Spearman's correlation analysis revealed low correlation between all nutrient intake and blood variables. Correlations ranged from r = -0.188, p = <0.001 for total energy value and LDL-2 and r = 0.138, p = 0.001 for total energetic value and LDL-3.

Total Energy Value was significantly associated with Serum Cholesterol, HDLCholesterol, HDL-2, HDL-3, LDL-Cholesterol, LDL-1, LDL-2, Non-HDL, VAP A1, VAP B, LDL-Real + Lipoprotein A + IDL and LDL-4. With the exception of LDL-4, the other variables were negative. Carbohydrate was significantly and negatively associated with Serum Cholesterol, HDL-Cholesterol, HDL-2, HDL-3, LDL-Cholesterol, LDL-1, LDL-2, LDL-4, Lipoprotein A, Non-HDL, VAP A1, LDL-Real + Lipoprotein A + IDL. Protein was significantly and positively associated with Serum Cholesterol, LDL-Cholesterol, LDL-1 and LDL-Real + Lipoprotein A + IDL. Lipids were significantly and positively associated with HDL-Cholesterol, HDL-2, HDL3, LDL-2, Lipoprotein A and VAPA1, while significantly and negatively associated with LDL-4, VAP B/VAP A, Triglycerides, VLDL3 and LDL-Real + Lipoprotein A + IDL.

Dietary cholesterol was positively and significantly associated with VAP A1. Saturated fatty acid intake was significantly associated with HDL-Cholesterol, HDL-2, HDL-3, LDL-2, Lipoprotein A, VAP A1, LDL-4, VAP B and VAP A ratio, triglycerides, VLDL and VLDL3. These last five had the direction of association different, being negative. The intake of monounsaturated fatty acids had a low and negative, but significant, correlation with LDL-4 and VAP B and VAP A ratio; it was positive with HDL-Cholesterol, HDL-2, HDL-3, LDL-2, Lipoprotein A and VAP A 1.

Table 4 shows the linear interactions between the macronutrients intake and other fat variables that are most related to cholesterol subfraction group. Canonical correlation was performed between blood and dietary variables, containing 21 variables and another containing 10 variables, respectively. CCA1 explains a correlation of 0.012% between the two groups. CCA2 explains a smaller correlation: 0.002%.

Figure 1 represents the canonical correlation 1 and 2. The closer the variables are one of another, the greater is their correlation. And the further away, the smaller is the correlation. All variables show low correlation, as already was shown in Tables 3 and 4. The nearest to the origin (point 0.0) the variables are, the lower is the correlation with blood variables. As the limits of the graph vary from -0.010 to 0.020

on both x-axis and y-axis, then all these variables can be considered to be close to the origin. The intake group has no correlation with cholesterol group.

Discussion

This study assessed the association between fatty acids estimated from diet and subfractions of cholesterol. To our knowledge, this was the first study that aimed to verify the association between diet and lipoprotein subfractions, as defined by VAP method, with such large population. On average, the sample had diet considered as normoproteic, normolipidic, normoglycidic, with adequate amounts of polyunsaturated fatty acid and monounsaturated fatty acids. The amount of saturated fatty acids was high and the ratio of linoleic fatty acid and linolenic fatty acid was also high. Circulating plasma concentrations exhibit low correlation with dietetic values estimated by dietary questionnaires.

The composition of serum lipids represents a measure in the short and medium term, taking from weeks to months and depending on numerous factors (10). The measurement of fatty acids in adipocytes usually presents a good correlation with dietary fat intake, as assessed by dietary food such as QFF, but it appears to be inappropriate for estimating it in the long term (11). The advantage of using biomarkers is that they are free of social desirability bias, independent of memory and not based on subjects' ability to describe the type and quantity of food consumed (12). Albeit these biochemical markers may provide more accurate measures than dietary intake estimates alone do, a number of biomarkers have been known to provide integrated measures reflecting their absorption and metabolism after consumption, but they are also affected by metabolism, environment, lifestyle, disease and homeostatic regulation, thus their values cannot be translated into subject's absolute dietary intake (13).

Since 1960, HDL analysis has been studied because of its relationship to cardiovascular disease (14),(15). Although the causal role for diet-induced changes in HDL cholesterol has not been proven in previous studies, it appears imprudent to ignore the marked effect of diet on HDL. An additional justification might be that HDL includes the amount of cholesterol in VLDL, which also positively correlates with cardiovascular risk (16). HDL splits in HDL2 and HDL3, the HDL3 subfraction is smaller and denser and plays an important role in reverse cholesterol transport. Less

lapidated HDL particles interact with macrophages and promote cholesterol mobilization and externalization. The released cholesterol is esterified by lecithincholesterol acyltransferase and used to lipidate, HDL3 to larger HDL2. Finally, cholesteryl-ester transfer protein transfers cholesterol ester out of HDL particles to ApoB contains lipoproteins in exchange for triglycerides, which are then rapidly hydrolyzed by hepatic lipase, promoting conversion large HDLs into smaller particles (17).

Previous ELSA-Brazil studies have previously described the sample in relation to the amount of HDL (17). In our analysis, all correlations of diet with HDL were low. The analysis of HDL, HDL2 and HDL 3 was significant and inversely correlated with carbohydrate and Total Energy Value and had a positive correlation with lipids, saturated and monounsaturated fatty acids. What showed the most change in HDL was the amount of carbohydrate and monounsaturated fatty acids. In agreement with this finding, some studies have demonstrated that the decrease of carbohydrates amount in the diet has shown better cardioprotective profile, especially with the elevation of HDL (18, 19). Other studies have found that in the long term, diets that increase the amount of monounsaturated fatty acids increase the amount of HDL (20, 21).

One of the main strengths is that our study represented a big population, with specific factors such as socioeconomic status, education, alcoholism and tabagism. Given the complexity of lipid metabolism as it relates to the development and progression of coronary heart disease, the current investigation used a complete lipid/lipoprotein profile utilizing vertical-density ultracentrifugation (VAP) to correlate diet and cholesterol.

The absence of significant results may have been due to a cross-sectional analysis. While it is well known that exercise and diet can interfere on blood lipid metabolism, interviewers were only instructed to ask about the frequency and quantity of food consumption, making it difficult to tell the real effect of diet on lipid concentrations. Further studies that include pre- and post-intervention measurements of body composition and objective measures of nutrition is needed to shed light on these prospects and to elucidate better the mechanisms of fatty acids and their association with chronic diseases.

Conclusion

Weak association was found between dietary fatty acids intake and lipid profile. Therefore, our results do not support the use of cholesterol subfractions as biomarkers of fatty acid intake. Further studies should be performed to elucidate better how fatty acids are associated with cardiovascular diseases.

Tables

Table 1: Socioeconomic, demographic and anthropometric indicators of individuals from São Paulo ELSA-Brasil.

Variables	Male		Female		Total		p*
Age (years)	n	%	n	%	n	%	
< 60	1160	80,8	1235	80,4	2395	78,9	0,796
≥ 60	276	19,2	301	19,6	577	19	
Self-declared race							
White	1306	62	1567	64,1	2873	63,1	<0,001
Mixed	528	25,1	503	20,6	1031	25,1	
Black	273	13	376	15,4	649	13	
Education (years)							
3-7	322	22,5	192	12,5	514	17,3	< 0,0001
8 – 11	554	38,7	615	40	1169	39,4	
≥ 12	554	38,7	732	47,6	1286	43,3	
Income**							
< 1244	1155	51,6	1218	46,6	2373	48,9	0,001
> 1245	1085	48,4	1397	53,4	2482	51,1	
BMI (Kg/m²)							
< 25	763	33,9	906	34,5	1669	34,2	0,698
25 - 29,9	933	41,4	1056	40,2	1989	40,7	
> 25	558	24,8	665	25,3	1223	25,1	
Physical active							
Inactive	1076	73,3	1254	80	2330	76,8	< 0,001
Moderate active	189	12,9	143	9,1	332	10,9	
Active	130	8,9	92	5,9	222	7,3	
Alcoholism***							
Abstenious	712	30,9	1309	48,9	2021	40,6	< 0,001
Moderate	843	36,6	1002	37,4	1845	37,1	
Excessive	746	32,4	367	13,7	1113	22,4	
Smoking							
Never	690	47	890	56,8	1580	52,1	< 0,001
Former	468	31,9	370	23,6	838	27,6	
Smoker	272	18,5	279	17,8	551	18,2	

MW: Minimal Wage
* Chi-Square
** 50th percentile

*** Abstenious (0g ethanol/week); Moderate (Men: 1-209g ethanol/week; Women: 1-139g ethanol/week); Excessive (Men: > 210g ethanol/week; Women: > 140g ethanol/week)

Table 2: Dietary intake of participants

Nutrient	Means + SD	Minimum	Maximum
Energy (Kcal/d)	2382 ± 943	893	6442
Protein (% of energy)	16,87 ± 2,95	7,67	33,8
Carbohydrate (% of energy)	56,15 ± 7,68	12,78	90,64
Fat (% of energy)	26,97 ± 5,28	9,97	51,34
Saturated fatty acid (% of energy)	8,73 ± 2,51	1,89	21,92
Monounsaturated fatty acid (% of energy)	8,39 ± 2,11	2,2	19
Polyunsaturated fatty acid (% of energy)	7,33 ± 1,60	1,95	18,99
Linoleic acid 18:2 n-6 (g/d)	15,66 ± 7,91	2,02	83,76
Linolenic acid 18:3 (g/d)	2,49 ± 1,20	0,42	12,05

Table 3: Correlation between ingested nutrients and lipid profile of individuals from São Paulo ELSA-Brasil.

VAP Variables[2]	TEV[1]	CHO (gram)[1]	PTN (gram)[1]	LIP (gram)[1]	Col (mg)[1]	SFA (gram)[1]	MFA (gram)[1]	PFA (gram)[1]	W3 (gram)[1]	W6 (gram)[1]
Serum cholesterol	-0,14(<0,001)*	-0,12 (0,001)*	0,10 (0,009)*	0,05 (0,163)	0,01 (0,788)	0,02 (0,534)	0,06 (0,134)	0,02 (0,631)	0,02 (0,638)	0,02 (0,533)
IDL + VLDL3	-0,02 (0,688)	0,01 (0,879)	0,04 (0,281)	-0,06 (0,123)	-0,01 (0,709)	-0,06 (0,097)	-0,04 (0,262)	-0,04 (0,230)	0,01 (0,747)	0,02 (0,608)
HDL	-0,13(<0,001)*	-0,13 (< 0,001)*	0,06 (0,087)	0,12 (0,001)*	0,06 (0,116)	0,12 (0,003)*	0,14 (< 0,001)*	0,01 (0,868)	-0,04 (0,325)	-0,02 (0,598)
HDL2	-0,14(<0,001)*	-0,10 (0,006)*	0,07 (0,079)	0,09 (0,011)*	0,03 (0,384)	0,10 (0,010)*	0,11 (0,004)*	-0,01 (0,844)	-0,03 (0,497)	-0,01 (0,754)
HDL3	-0,11 (0,002)*	-0,15 (< 0,001)*	0,06 (0,114)	0,13 (< 0,001)*	0,07 (0,058)	0,12 (0,002)*	0,15 (< 0,001)*	0,01 (0,796)	-0,04 (0,237)	-0,03 (0,479)
IDL	-0,06 (0,096)	0,02 (0,957)	0,05 (0,175)	-0,05 (0,197)	-0,02 (0,537)	-0,05 (0,179)	-0,03 (0,368)	-0,05 (0,198)	0,02 (0,519)	0,03 (0,384)
LDL	-0,12 (0,002)*	-0,09 (0,020)*	0,08 (0,032)*	0,04 (0,286)	-0,01 (0,836)	0,02 (0,667)	0,03 (0,485)	0,03 (0,444)	0,02 (0,536)	0,02 (0,567)
LDL1	-0,16(<0,001)*	-0,08 (0,053)	0,08 (0,026)*	0,04 (0,221)	0,08 (0,844)	0,05 (0,208)	0,05 (0,194)	-0,03 (0,415)	0,01 (0,785)	0,02 (0,537)
LDL2	-0,16(<0,001)*	-0,11 (0,003)*	0,04 (0,302)	0,14 (< 0,001)*	0,02 (0,564)	0,16 (< 0,001)*	0,13 (< 0,001)*	-0,00 (0,955)	0,02 (0,645)	0,02 (0,674)
LDL3	0,01 (0,730)	-0,02 (0,622)	0,03 (0,462)	-0,04 (0,323)	-0,03 (0,391)	-0,07 (0,051)	-0,05 (0,174)	0,05 (0,163)	-0,00 (0,946)	-0,01 (0,875)
LDL4	0,10 (0,008)*	0,07 (0,045)	0,01 (0,815)	-0,14 (< 0,001)*	-0,02 (0,612)	-0,17 (< 0,001)*	-0,14 (<0,001)*	0,01 (0,827)	0,01 (0,777)	0,01 (0,857)
Lipoprotein A	0,00 (0,937)	-0,10 (0,008)*	0,05 (0,223)	0,08 (0,030)*	0,05 (0,167)	0,08 (0,032)*	0,10 (0,007)*	-0,01 (0,747)	0,01 (0,745)	0,02 (0,508)
Non-HDL	-0,09 (0,015)*	-0,08 (0,027)*	0,08 (0,045)	0,02 (0,555)	0,00 (0,999)	0,00 (0,998)	0,02 (0,610)	0,01 (0,735)	0,03 (0,450)	0,03 (0,424)
VAP B / VAP A	0,01 (0,897)	0,04 (0,304)	0,02 (0,552)	-0,07 (0,045)*	-0,04 (0,261)	-0,08 (0,024)*	-0,09 (0,010)*	0,01 (0,840)	0,04 (0,276)	0,03 (0,387)
Triglycerides	0,04 (0,294)	0,02 (0,636)	-0,02 (0,530)	-0,08 (0,036)*	0,00 (0,906)	-0,08 (0,030)*	-0,06 (0,089)	-0,05 (0,222)	-0,02 (0,667)	-0,01 (0,752)
VAP A 1	-0,12 (0,001)*	-0,16 (< 0,001)*	0,07 (0,063)	0,13 (0,001)*	0,08 (0,026)*	0,10 (0,005)*	0,15 (< 0,001)*	0,01 (0,873)	-0,04 (0,256)	-0,02 (0,519)
VAP B	-0,08 (0,037)*	-0,06 (0,121)	0,07 (0,066)	-0,01 (0,893)	-0,01 (0,820)	-0,02 (0,520)	-0,01 (0,763)	0,01 (0,714)	0,03 (0,436)	0,03 (0,425)
VLDL	0,07 (0,056)	0,04 (0,296)	-0,01 (0,731)	-0,09 (0,020)*	-0,02 (0,671)	-0,08 (0,023)*	-0,07 (0,056)	-0,05 (0,160)	-0,02 (0,673)	-0,02 (0,685)
VLDL3	0,05 (0,176)	0,03 (0,436)	-0,00 (0,982)	-0,08 (0,028)*	-0,01 (0,747)	-0,08 (0,025)*	-0,06 (0,080)	-0,05 (0,188)	-0,01 (0,793)	-0,01 (0,843)
LDL-R+Lp (a)+IDL	-0,12 (0,001)*	-0,09 (0,018)*	0,08 (0,027)*	0,04 (0,339)	-0,01 (0,873)	0,01 (0,708)	0,03 (0,472)	0,02 (0,620)	0,03 (0,500)	0,03 (0,446)
Estimated LDL	0,05 (0,177)	-0,02 (0,586)	0,07 (0,054)	-0,05 (0,206)	-0,04 (0,255)	0,00 (0,937)	-0,04 (0,349)	-0,10 (0,010)	-0,06 (0,111)	-0,05 (0,170)

[1] Nutrient intake was adjusted by energy accordingly to the residual method. TEV: Total Energy Value; CHO: Carbohydrate; PTN: Protein; LIP: Lipid; SFA: Saturated Fatty Acid; MFA: Monounsaturated Fatty Acid; PFA: Polyunsaturated Fatty Acid; Col: Cholesterol; W3: Linolenic Fatty Acid; W6: Linoleic Fatty Acid.

[2] HDL, high-density lipoprotein cholesterol subfraction; HDL2, high-density lipoprotein cholesterol subfraction 2; HDL3, high-density lipoprotein cholesterol subfraction 3; IDL, intermediate-density lipoprotein cholesterol; IDL-C + VLDL3, intermediate-density lipoprotein cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol subfraction 3; LDL, low-density lipoprotein cholesterol of subfractions 1-4; LDL1, low-density lipoprotein cholesterol of subfractions 1; LDL2, low-density lipoprotein cholesterol of subfractions 2; LDL3, low-density lipoprotein cholesterol of subfractions 3; LDL4, low-density lipoprotein cholesterol of subfractions 4; LDL estimated, low-density lipoprotein cholesterol sum of lipoprotein (a) + intermediate-density lipoprotein cholesterol 24+ cholesterol contento f LDL subfractions 1-4 (LDL);Non-HDL, LDL + VLDL + (IDL+VLDL3); VAP A1, apolipoprotein 1; VAP B: apolipoprotein B100; VLDL, very low density lipoprotein cholesterol subfraction; VLDL3, very low density lipoprotein cholesterol subfraction 3; VAP B / VAP A, apolipoprotein B100 / A1 ratio.

Table 4: Coefficients of the two most significant canonical correlations

Diet Variables	CCA1	CCA2
Total Energy Value	0,0006616	-0,000931
Carbohydrate	0,0057328	0,0057683
Protein	-0,005937	-0,004439
Lipid	-0,002363	-0,006994
Dietary cholesterol	-0,013012	0,0064859
Saturated fatty acid	-0,004445	-0,00791
Monounsaturated fatty acid	-0,003043	-0,009934
Polyunsaturated fatty acid	0,0030936	-0,004727
Linolenic fatty acid	0,0175278	0,0154372
Linoleic fatty acid	0,0202159	0,0128987

Declarations sections

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the Brazilian local ethic committees and all participants provided written informed consent.

Consent for publication

Not applicable.

Availability of data and materials

Since the data contains private information from research participants, the data can only be available with authorization.

Competing interests

ELSA-Brasil is supported by Health Ministry, but the present study did not have funding from and funding organism.

Authors' contributions

Ludmila Macêdo Naud analyzed and interprete the patient's data and wrote the manuscript.

Dirce Maria Lobo Marchioni was the major contributor in writing the manuscript and reviewed the manuscript.

Isabela Judith Bensenor reviewed the manuscript.

Paulo Andrade Lotufo is ELSA-Brasil's coordinator and has reviewed the article.

All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

Not applicable.

References

1. Farvid MS, Ding M, Pan A, Sun Q, Chiuve SE, Steffen LM, et al. Dietary linoleic acid and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. Circulation. 2014;130(18):1568-78.

2. Deckelbaum RJ. n-6 and n-3 Fatty acids and atherosclerosis: ratios or amounts? Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2010;30(12):2325-6.

3. de Oliveira Otto MC, Mozaffarian D, Kromhout D, Bertoni AG, Sibley CT, Jacobs DR, et al. Dietary intake of saturated fat by food source and incident cardiovascular disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. Am J Clin Nutr. 2012;96(2):397-404.

4. Kim YJ, Kim OY, Cho Y, Chung JH, Jung YS, Hwang GS, et al. Plasma phospholipid fatty acid composition in ischemic stroke: importance of docosahexaenoic acid in the risk for intracranial atherosclerotic stenosis. Atherosclerosis. 2012;225(2):418-24.

5. Jenab M, Slimani N, Bictash M, Ferrari P, Bingham SA. Biomarkers in nutritional epidemiology: applications, needs and new horizons. Hum Genet. 2009;125(5-6):507-25.

6. Aquino EM, Barreto SM, Bensenor IM, Carvalho MS, Chor D, Duncan BB, et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. Am J Epidemiol. 2012;175(4):315-24.

7. Chor D, Alves MG, Giatti L, Cade NV, Nunes MA, Molina MeC, et al. [Questionnaire development in ELSA-Brasil: challenges of a multidimensional instrument]. Rev Saude Publica. 2013;47 Suppl 2:27-36.

8. Willett WC, Howe GR, Kushi LH. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. Am J Clin Nutr. 1997;65(4 Suppl):1220S-8S; discussion 9S-31S.

9. Piccinelli M, Tessari E, Bortolomasi M, Piasere O, Semenzin M, Garzotto N, et al. Efficacy of the alcohol use disorders identification test as a screening tool for hazardous alcohol intake and related disorders in primary care: a validity study. BMJ. 1997;314(7078):420-4.

10. Katan MB, Deslypere JP, van Birgelen AP, Penders M, Zegwaard M. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-month controlled study. J Lipid Res. 1997;38(10):2012-22.

11. Andersen LF, Solvoll K, Johansson LR, Salminen I, Aro A, Drevon CA. Evaluation of a food frequency questionnaire with weighed records, fatty acids, and alpha-tocopherol in adipose tissue and serum. Am J Epidemiol. 1999;150(1):75-87.

12. Potischman N. Biologic and methodologic issues for nutritional biomarkers. J Nutr. 2003;133 Suppl 3:875S-80S.

13. Kaaks R, Ferrari P, Ciampi A, Plummer M, Riboli E. Uses and limitations of statistical accounting for random error correlations, in the validation of dietary questionnaire assessments. Public Health Nutr. 2002;5(6A):969-76.

14. Williams PT, Krauss RM, Vranizan KM, Stefanick ML, Wood PD, Lindgren FT. Associations of lipoproteins and apolipoproteins with gradient gel electrophoresis estimates of high density lipoprotein subfractions in men and women. Arterioscler Thromb. 1992;12(3):332-48

15. Joshi PH, Toth PP, Lirette ST, Griswold ME, Massaro JM, Martin SS, et al. Association of high-density lipoprotein subclasses and incident coronary heart disease: The Jackson Heart and Framingham Offspring Cohort Studies. Eur J Prev Cardiol. 2016;23(1):41-9.

16. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. J Cardiovasc Risk. 1996;3(2):213-9.

17. Generoso G, Bensenor IM, Santos RD, Santos IS, Goulart AC, Jones SR, et al. Association between high-density lipoprotein subfractions and low-grade inflammation, insulin resistance, and metabolic syndrome components: The ELSA-Brasil study. J Clin Lipidol. 2018.

18. Bazzano LA, Hu T, Reynolds K, Yao L, Bunol C, Liu Y, et al. Effects of low-carbohydrate 1 and low-fat diets: a randomized trial. Ann Intern Med. 2014;161(5):309-18.

19. Davis NJ, Tomuta N, Schechter C, Isasi CR, Segal-Isaacson CJ, Stein D, et al. Comparative study of the effects of a 1-year dietary intervention of a low-carbohydrate diet versus a low-fat diet on weight and glycemic control in type 2 diabetes. Diabetes Care. 2009;32(7):1147-52.

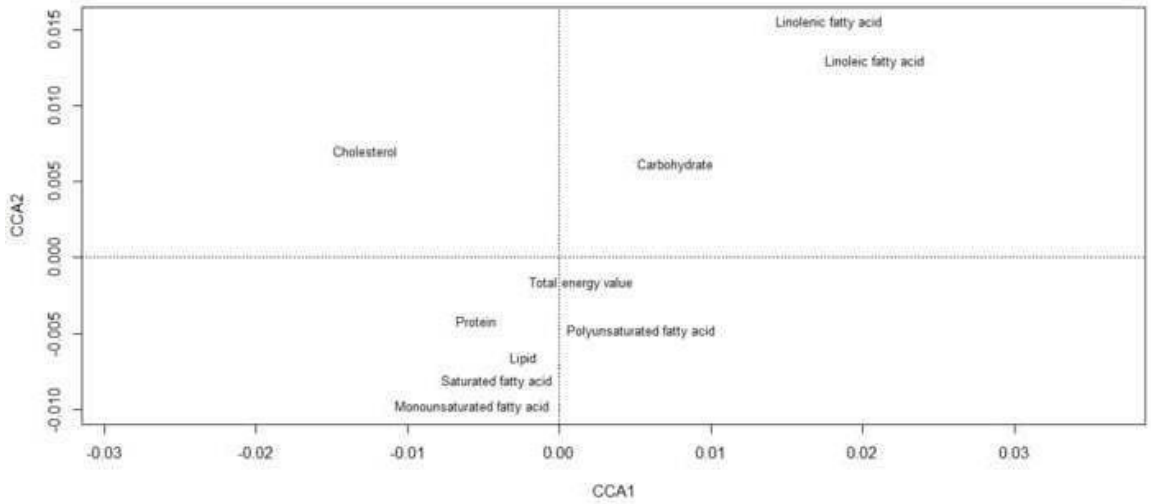
20. Gillingham LG, Gustafson JA, Han SY, Jassal DS, Jones PJ. High-oleic rapeseed (canola) and flaxseed oils modulate serum lipids and inflammatory biomarkers in hypercholesterolaemic subjects. Br J Nutr. 2011;105(3):417-27.

21. Adams TH, Walzem RL, Smith DR, Tseng S, Smith SB. Hamburger high in total, saturated and trans-fatty acids decreases HDL cholesterol and LDL particle diameter, and increases TAG, in mildly hypercholesterolaemic men. Br J Nutr. 2010;103(1):91-8.

22. Kuller L, Arnold A, Tracy R, Otvos J, Burke G, Psaty B, et al. Nuclear magnetic resonance spectroscopy of lipoproteins and risk of coronary heart disease in the cardiovascular health study. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002;22(7):1175-80.

Figure legend:

Figure 1 contains a graph that represents canonical correlation 1 and 2. The closer the variables are one of the other, the greater is the correlation.



4.2. Segundo manuscrito - Perfil lipídico e consumo de bebida alcóolica: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto

Perfil lipídico e consumo de bebida alcóolica: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto

Objetivo: Investigar o efeito do consumo de álcool geral, assim como o tipo de bebida alcóolica consumida, em diferentes medidas lipídicas. **Método:** O efeito do consumo de álcool foi investigado, bem como o tipo de bebida alcóolica, em diferentes medidas lipídico em ambos os sexos de população do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto. **Resultados:** Foram realizadas análises em relação ao tipo e quantidade de consumo de bebida alcóolica por sexo. O consumo baixo a moderado de álcool, independentemente do tipo de bebida alcóolica consumida, resultou em níveis mais elevados de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol em homens e mulheres. Não houve participantes de pesquisa que consumiam em quantidade baixa a moderada de bebidas alcóolicas destiladas. Os triglicerídeos tiveram efeitos inversos para homens e mulheres no perfil lipídico. Para homens, bebidas destiladas contribuíram para melhor perfil dos triglicerídeos, enquanto para mulheres foi o contrário. Homens que consumiam bebidas alcóolicas destiladas tiveram níveis menores de triglicerídeos e mulheres que consumiam bebidas alcóolicas destiladas tiveram níveis maiores. Nossos resultados estão de acordo com estudos anteriores. **Conclusão:** O consumo de álcool resultou em níveis diferentes de medidas lipídicas séricas em homens e mulheres. Desta forma, conclui-se que a resposta ao álcool tem diferenças biológicas.

Descritores: Alcoolismo; Gorduras; Lipoproteínas HDL; Distribuição por Sexo.

Lipidic profile and alcohol consumption: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto

Objective: To investigate the effect of general alcohol consumption, as well as the type of alcohol consumed, in different lipid measurements. **Method:** The effect of alcohol consumption was investigated, as well as the type of alcoholic beverage, in different lipid measurements in both sexes of the Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto. **Results:** Analyzes were conducted with the type and amount of alcohol consumption by sex. Low to moderate alcohol consumption, regardless of the type of alcohol consumed, resulted in higher levels of HDL-cholesterol, HDL2-cholesterol and HDL3-cholseterol in men and women. There were no research participants who consumed low to moderate amounts of spirits.

Triglycerides had inverse effects for men and women on the lipid profile. For men, spirits correspond to a better triglyceride profile, while for women it was the other way around. Triglycerides had inverse effects on men and women. Men who consumed distilled alcohol had lower levels of triglycerides and women who consumed spirits had higher levels. Our results are in agreement with previous studies. **Conclusion:** Alcohol consumption resulted in different levels of serum lipid measurements in men and women. Thus, it is concluded that the response to alcohol has biological differences.

Descriptors: Alcoholism; Fats; Lipoproteins, HDL; Sex Distribution.

Perfil lipídico y consumo de bebida alcóolica: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto

Objetivo: Investigar el efecto del consumo de alcohol general, así como el tipo de bebida alcohólica consumida, en diferentes medidas lipídicas. **Método:** El efecto del consumo de alcohol fue investigado, así como el tipo de bebida alcohólica, en diferentes medidas lipídicas en ambos sexos de población del Estudio Longitudinal de Salud del Adulto. **Resultados:** Se realizaron análisis en relación al tipo y cantidad de consumo de bebida alcohólica por sexo. El consumo bajo a moderado de alcohol, independientemente del tipo de bebida alcohólica consumida, resultó en niveles más altos de HDL-colesterol, HDL2-colesterol y HDL3-coleseterol en hombres y mujeres. No hubo participantes de investigación que consumían en cantidad baja a moderada de bebidas alcohólicas destiladas. Los triglicéridos tuvieron efectos inversos para hombres y mujeres en el perfil lipídico. Para los hombres, las bebidas destiladas contribuyeron a un mejor perfil de los triglicéridos, mientras que para las mujeres fue lo contrario. Los hombres que consumían bebidas alcohólicas destiladas tenían niveles más pequeños de triglicéridos y las mujeres que consumían bebidas alcohólicas destiladas tuvieron niveles más altos. Nuestros resultados están de acuerdo con estudios anteriores. **Conclusión:** El consumo de alcohol resultó en niveles significativamente mayores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol y HDL3-colesterol, tanto en mujeres como en hombres. De esta forma, se concluye que la respuesta al alcohol tiene diferencias biológicas.

Descriptores: Alcoholismo; Grasas; Lipoproteínas HDL; Distribución por Sexo.

Introdução

Alguns estudos prospectivos têm encontrado que o consumo baixo a moderado e constante de álcool estaria associado com a redução do risco de

doença coronariana[1-4], sendo esta redução associada com os efeitos benéficos do álcool sobre os lipídios, principalmente o HDL-colesterol[5-7]. Os efeitos protetores do álcool contra a doença coronariana estaria mediado pelo aumento do HDL-colesterol[8]. Embora menos frequente, a diminuição no LDL-colesterol também tem sido relatada e além do HDL-colesterol e LDL-colesterol, o álcool também tem mostrado alterar os níveis de triglicerídeos, em média, a cada grama de álcool consumida por dia a mais, aumentou em 0,19mg/dL de triglicerídeo[9-10].

A maior parte desses estudos avaliaram os efeitos da bebida alcóolica e o aparecimento de doenças, entretanto a influência dos diferentes tipos de bebidas alcóolicas nos níveis plasmáticos de lipídeos tem sido investigada em menor grau e em populações específicas, sendo normalmente homens ou efeitos do consumo alcóolico em populações dependentes da substância. Até onde sabemos, este é o único estudo a investigar a associação entre o consumo de bebidas alcóolicas e medidas lipídicas em uma amostra brasileira tão grande, comparando os efeitos em homens e mulheres.

Estudos experimentais e transversais têm relatado os efeitos benéficos do consumo de álcool no HDL-colesterol e independem do tipo de bebida alcóolica ingerida, mas sim pelo consumo do próprio álcool, de encontro com estudos que sugerem que os componentes não-alcóolicos, como os polifenóis antioxidantes do vinho tinto, seriam os responsáveis pelo efeito cardioprotetor[9,11-13]. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito do consumo de álcool geral, assim como o tipo de bebida alcóolica consumida, em diferentes medidas lipídicas.

Materiais e Métodos

ELSA-Brasil

O ELSA-Brasil é uma coorte com 15.105 participantes entre 35 e 74 anos em seis cidades brasileiras. A população corresponde a docentes e funcionários na ativos e aposentados de seis instituições de pesquisa brasileiras: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Universidade de São Paulo, Universidade Federal de Minas Gerais, Fundação Oswaldo Cruz, Universidade Federal da Bahia e Universidade Federal do Espírito Santo[6]. Resumidamente, entre 15105 participantes avaliados em 2008-10, 4.979 deles tinham perfil lipídico medido por ultracentrifugação de densidade vertical (Vertical Auto Profile (VAP)) do centro de coleta do estado de São Paulo[7]. Foram excluídos indivíduos que não tinham dados de consumo de bebidas alcóolicas totalizando 4976 pessoas analisadas no presente estudo.

Cada participante respondeu a uma entrevista de acordo com um protocolo padrão. As entrevistas e exames foram feitos por entrevistadores capacitados em um rígido controle de qualidade. O ELSA-Brasil foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo com o cadastro CEP-HU: 659/06 e à época com o Cadastro SISNEP: FR-93920. Após a criação da Plataforma Brasil, o ELSA-Brasil foi aprovado pela Conep, com o CAAE: 0016.1.198.000-06 e todos os participantes envolvidos nesta pesquisa forneceram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Medidas de subclasses de lipoproteínas e LDL

A coleta de sangue ocorreu após jejum noturno de 12 horas. As amostras de sangue foram centrifugadas no centro local e armazenadas em tubos em temperatura de -80ºC. Um perfil lipoproteico completo, que incluiu colesterol no plasma, HDL-colesterol, HDL2-colesterol, HDL3-colesterol, lipoproteína A, LDL-real (colesterol LDL sem IDL e Lipoproteína A), IDL-colesterol e VLDL-colesterol para cada indivíduo foi determinado utilizando a metodologia *Vertical Auto Profile* (Atherothech®, Birmingham, Alabama, EUA). VAP é um método de medida direta, sem estimativas envolvidas. É baseado na combinação de ultracentrifugação e um analisador enzimático de colesterol de fluxo contínuo, sendo altamente sensível e reproduzível.

A análise do perfil de colesterol da subclasse foi realizada utilizando o método LDL-VAP, que é uma modificação do procedimento VAP projetado para separar as subclasses de LDL-colesterol, variando de LDL1-colesterol a LDL4-colesterol.

Consumo de álcool

Para avaliar o consumo de bebidas alcóolicas (cerveja, vinho, destilados), foi utilizado o Questionário de uso de álcool, que foi estruturado com perguntas fechadas baseadas no questionário do *National Center for Health Statistics*. O padrão de bebida e frequência semanal de consumo de álcool de bebidas foi determinado baseado neste questionário.

Para o cálculo da quantidade de etanol em gramas, a porcentagem média de álcool das marcas de bebida mais comuns do mercado foi utilizada sendo cerveja: 6%, vinho: 12% e destilados: 39%. Primeiramente, a quantidade reportada semanalmente pela medida em mL foi determinada e, posteriormente, a quantidade

de ingestão de álcool puro em mL/semana foi calculada de acordo com a concentração de álcool em cada bebida. Subsequentemente foram adicionadas à quantidade de álcool consumido em tipos de bebia e depois, multiplicados pela densidade de etanol (0,8) para obter a quantidade total de etanol puro em grama por semana. Pessoas que consumiam álcool excessivamente foram categorizadas como aquelas que tiveram consumo de etanol maior ou igual a 210g/semana para homens e maior ou igual a 140g/semana para mulheres.

Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram feitas utilizando o software SPSS versão 17. Por conta dos diferentes padrões de bebida entre homens e mulheres e suas variações nas medidas lipídicas, todas as análises foram conduzidas separadamente. A análise de normalidade foi realizada utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov.

O consumo de álcool foi considerado como variável categórica (baixo-moderado e excessivo). As categorias de baixo-moderado foram definidas diferentemente por sexo segundo os guidelines do US Department of Agriculture Dietary Guidelines 2005, sendo para homens: baixo-moderado menor ou igual a 210gramas/semana, e excessivo >210gramas/semana, enquanto para mulheres, baixo-moderado foi menor ou igual a 140gramas/semana e excessivo maior que 140gramas por semana.

Quando considerado o tipo específico de bebida alcóolica consumida, foi levado em consideração pessoas que não só eram inclinadas a consumir somente um tipo de bebida alcóolica, mas que consumiam também diferentes tipos de vinho,

bebida ou destilados. Para isso, foi definido um tipo particular de bebida alcóolica predominante se o consumo deste tipo específico de bebida totalizasse dois terços ou mais da quantidade total de etanol consumida.

Para comparação dos tipos de bebida consumida (abstêmio, consumidores de vinho, cerveja, destilado ou misto), foi utilizado o teste One-Way ANOVA. A comparação de consumidores de bebida baixo a moderado com excessivo para cada tipo de bebida, foi feito o teste t de student.

Resultados

As medidas lipídicas médias para cada estrato de sexo estão nas tabelas 1, 2 e 3. Os valores estão divididos de acordo com a quantidade de consumo de álcool e o tipo de bebida alcóolica consumida. HDL-colesterol, HDL2-colesterol, HDL3-colesterol, LDL4-colesterol, VLDL-colesterol, VLDL3-colesterol, razão VAPB/VAPA, Triglicerídeos e VAPA1 tiveram diferenças significativas entre abstêmios, consumidores de vinho, cerveja, destilado e misto. E em relação à quantidade de bebida, só foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os consumidores mistos de bebida alcóolica, sendo os valores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol, HDL3-colesterol e VAP A1 maiores para quem bebe excessivamente. Tanto para homens quanto para mulheres, não tiveram participantes que consumiam bebidas destiladas moderadamente.

Tabela 1: Medidas de lipídeos médias por grupos de ingestão alcóolica e tipos de bebidas consumidas em São Paulo, SP, Brasil, 2018.

Uso de álcool	n	HDL*	HDL2*	HDL3*	LDL	LDL1	LDL2	LDL3	LDL4†
		mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Abstêmio	2020	54	14,5	39,5	134,5	22	30,8	46,5	10,8
Vinho	569	55,9	15,4	40,5	134,3	22,3	32,5	45,3	9,7
B-M	546	56	15,5	40,6	133,9	22,2	32,4	45,3	9,7
E	23	53,9	14,6	39,2	143	24,4	34,6	45,6	11,4
Cerveja	751	53,6	14,2	39,4	143	24,4	34,6	45,6	11,4
B-M	636	53,4	14,1	39,3	136,9	22,1	31,4	47,4	11,6
E	115	54,5	14,5	39,9	135,7	21,1	29,8	49	12
Destilado	37	54,1	14,9	39,2	141,1	23,7	33	47,5	11,7
B-M	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E	37	54,1	14,9	39,2	141,1	23,7	33	47,5	11,7
Misto	1601	56,0§	15,1§	40,8‡	134,3	21,7	31,6	46,4	10,7
B-M	1232	55,3	14,9	40,4	133,9	21,7	31,4	46,2	10,8
E	369	58,3	16	42,3	135,5	21,6	32,5	47	10,3

Uso de álcool	n	VLDL†	VLDL3	IDL	Lip A	n-HDL	B/A*	TGL†	A1*	B	LDLe	LDLr
		mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Abstêmio	2020	27,6	15,1	17,4	110,1	162,1	0,7	130,8	155	104,9	135,9	110,1
Vinho	569	26,5	14,7	17	109,8	160,8	0,7	123,7	157,5	104,1	136	109,8
B-M	546	26,4	14,6	17	109,5	160,3	0,7	123,1	157,6	103,8	135,7	109,5
E	23	28,1	15,2	17,9	116	171,1	0,7	137,6	154,6	110,4	143,6	116
Cerveja	751	29,2	15,6	17,3	112,4	166	0,7	141,4	155,4	107,1	137,7	112,4
B-M	636	29	15,5	17,4	112,5	165,9	0,7	138,5	155	107,1	138,2	112,5
E	115	30,8	16	17,1	112	166,5	0,7	157,8	157,9	107,3	134,8	112
Destilado	37	26,1	14,6	17,5	115,9	167,4	0,7	153,4	154,8	109,4	136,6	115,9
B-M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E	37	26,1	14,6	17,5	115,9	167,4	0,7	153,4	154,8	109,4	136,6	115,9
Misto	1601	27,3	14,9	16,8	110,4	161,6	0,7	131	158,6‡	104,3	135,4	110,4
B-M	1232	27,4	14,9	16,8	110	161,3	0,7	129,8	157,4	104,3	135,4	110
E	369	26,9	14,7	16,7	111,5	162,4	0,7	135,3	162,4	104	135,3	111,5

B-M Baixo a moderado; E Excessivo; Lip A Lipoproteína A; n-HDL Não-HDL; B/A VAP B/VAP A; TGL Triglicerídeos; A1 VAP A1; B VAP B; LDLe LDL estimado; LDLr LDL real

* ANOVA < 0,001; † ANOVA < 0,05

§Teste T < 0,05; ‡ Teste T < 0,001

No geral, consumidores de cerveja tiveram níveis menores de HDL-colesterol e consumidores de mais de um tipo de bebida alcóolica tiveram níveis elevados; valores de LDL4-colesterol mais baixos para os consumidores de vinho e mais elevados para quem consome bebidas destiladas; valores mais baixos de VLDL-colesterol para quem consome somente bebidas destiladas e valores mais elevados para quem consome cerveja; valores mais baixos de triglicerídeo para consumidores de vinho e valores mais elevados para consumidores de bebida destilada; valores mais baixos de VAPA1 para consumidores de bebidas destiladas e valores mais elevados para consumidores de bebidas mistas.

Em relação aos homens, os valores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol, HDL3-colesterol, LDL4-colesterol, VLDL-colesterol, VLDL-colesterol, triglicerídeo e VAP A1 apresentaram diferenças estatisticamente significativas e entre a quantidade de bebida alcóolica, foi apresentada diferença entre a quantidade de vinho para HDL2 e misto para HDL, HDL2, HDL3 e VAPA1 (tabela 2). Na população masculina, consumidores de cerveja tiveram valores menores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol e consumidores de destilados tiveram valores maiores; abstêmios tiveram níveis mais baixos de LDL2-colesterol e consumidores de cerveja tiveram níveis mais altos; quem consumia mais de um tipo de bebida alcóolica teve níveis menores de IDL-colesterol e consumidores de destilados tiveram níveis mais altos; consumidores de mais de um tipo de bebida tiveram níveis mais baixos de triglicerídeos e níveis mais altos para consumidores de destilados; consumidores de bebidas destiladas tiveram níveis mais baixos de VAPA1 e consumidores de bebidas mistas tiveram níveis mais altos.

Tabela 2: Medidas de lipídeos por grupos de ingestão alcóolica e tipos de bebidas consumidas em homens em São Paulo, SP, Brasil, 2018.

Uso de álcool		n	HDL*	HDL2*	HDL3*	LDL	LDL1	LDL2	LDL3	LDL4†
			mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Abstêmio		838	47,7	11,58	36,1	133,5	20,2	24,7	50,9	14,4
Vinho		246	50,9	12,9§	37,9	130,7	19,8	26,6	49,2	12,5
	B-M	233	51,1	13,1	38,1	130,1	19,6	26,2	49,2	12,5
	E	13	45,8	10,5	35,2	142	22,9	33,1	49,6	12,1
Cerveja		366	47,43	11,4	36,1	135,3	19,9	24,1	51,8	15,9
	B-M	314	47,3	11,3	36	135,2	19,9	24,2	51,7	15,7
	E	52	48,1	11,4	36,7	135,3	19,5	23,4	52,7	17,3
Destilado		17	52,6	12,9	39,7	142,9	20,6	27,5	55,8	15,1
	B-M	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E	17	52,6	12,9	39,7	142,9	20,6	27,5	55,8	15,1
Misto		833	51,6	12,9§	38,7§	134,5	20,4	26,6	49,9	13,8
	B-M	659	50,7	12,6	38,1	134	20,5	26,5	49,5	13,7
	E	174	54,7	14	40,8	136,5	20,3	26,9	51,2	14

Uso de álcool		n	VLDL*	VLDL3	IDL	Lip A	n-HDL	B/A†	TGL†	A1*	B*	LDLe	LDLr
			mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Abstêmio		838	30,2	15,9	17,2	110,2	163,8	0,7	148,6	146,2	107	134,1	110,2
Vinho		246	28,6	15,3	16,1	108,1	159,3	0,7	136,2	150,6	103,9	132,1	108,1
	B-M	233	28,4	15,3	16	107,5	158,5	0,7	135,2	151	103,4	131,5	107,5
	E	13	31,2	16,2	18,1	117,6	173,3	0,8	154,2	144	112,6	142,4	117,6
Cerveja		366	33,4	16,9	17,4	111,7	168,7	0,8	170,1	147,6	109,9	134,6	111,7
	B-M	314	33,1	16,9	17,5	111,5	168,3	0,8	165,2	147,2	109,7	135,3	111,5
	E	52	35,3	17	16,6	113	170,6	0,8	199,9	150	111,6	113	113
Destilado		17	26,2	14,8	16,5	119,1	169,4	0,7	122,2	153,7	110,9	144,9	119,1
	B-M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E	17	26,2	14,8	16,5	119,1	169,4	0,7	122,2	153,7	110,9	144,9	119,1
Misto		833	29,9	15,8	17,1	110,7	164,5	0,7	148,9	153,3‡	106,7	134,7	110,7
	B-M	659	29,9	15,8	17,1	110,2	163,8	0,7	144,9	151,8	106,7	134,8	110,2
	E	174	30,5	15,9	17	112,4	166,9	0,7	164,3	159	107	134,1	112,4

B-M Baixo a moderado; E Excessivo; Lip A Lipoproteína A; n-HDL Não-HDL; B/A VAP B/VAP A;
TGL Triglicerídeos; A1 VAP A1; B VAP B; LDLe LDL estimado;
* ANOVA < 0,001; † ANOVA < 0,05
§ Teste T < 0,05

Quanto às mulheres, somente foram apresentadas diferenças de HDL-colesterol, HDL2-colesterol, HDL3-colesterol, LDL2-colesterol, IDL-colesterol, triglicerídeos e VAP A1 (tabela 3). Mulheres que consomem só destilado tiveram níveis mais baixos de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol e mulheres que consomem mais de um tipo de bebida alcóolica tiveram níveis mais altos; mulheres que não bebem tiveram níveis mais baixos de LDL2-colesterol e mulheres que bebem somente cerveja tiveram níveis mais altos; quem consome mais de um tipo de bebida alcóolica teve níveis mais baixos de IDL-colesterol e triglicerídeo e mulheres que bebem somente bebidas destiladas tiveram níveis mais elevados; para VAPA1, mulheres que só consomem destilados tiveram níveis mais baixos e mulheres que bebem mais de um tipo de bebida alcóolica tiveram níveis mais elevados.

Tabela 3: Medidas de lipídeos por grupos de ingestão alcóolica e tipos de bebidas consumidas em mulheres em São Paulo, SP, Brasil, 2018.

Uso de álcool	n	HDL*	HDL2*	HDL3*	LDL	LDL1	LDL2†	LDL3	LDL4
		mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Abstêmio	1180	58,53	16,6	41,9	135,1	23,3	35,2	43,4	8,3
Vinho	322	59,9	17,3	42,5	136,9	24,2	37,1	42,2	7,6
B-M	313	59,7	17,2	42,4	136,8	24,1	37	42,3	7,5
E	10	64,50	19,90	44,40	144,20	26,30	36,60	40,40	10,60
Cerveja	385	59,4	16,9	42,5	138,2	23,9	37,8	43,7	7,7
B-M	322	59,4	16,9	42,5	138,6	24,3	38,3	43,3	7,7
E	63	59,70	17,10	42,70	136,00	22,40	35,10	45,90	7,70
Destilado	20	55,5	16,6	38,9	139,6	26,3	37,7	40,6	8,8
B-M	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E	20	55,50	16,60	38,90	139,60	26,30	37,70	40,50	8,80
Misto	768	60,7	17,6	43,2	134,1	23,1	37,1	42,6	7,4
B-M	573	60,5	17,5	43	133,9	23,1	36,9	42,3	7,5
E	195	61,60	17,80	43,80	134,50	22,80	37,60	43,30	7,00

Uso de álcool	n	VLDL	VLDL3	IDL*	Lip A	n-HDL	B/A*	TGL*	A1†	B	LDLe	LDLr
		mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL	mg/dL
Abstêmio	1180	25,8	14,6	17,6	110,1	160,9	0,7	118,2	161,1	103,5	137,2	110,1
Vinho	322	24,7	14,1	17,7	110,9	161,6	0,7	113,4	162,6	104	138,8	110,9
B-M	313	24,9	14,2	17,7	111	161,7	0,7	114	162,4	104,1	138,8	111
E	10	24,10	13,80	17,70	113,80	168,30	0,60	116,1	168,4	107,60	145,10	113,80
Cerveja	385	25,3	14,4	17,3	113,1	163,5	0,7	114,2	162,7	104,5	140,6	113,1
B-M	322	24,9	14,2	17,3	113,5	163,5	0,7	112,4	162,4	104,6	141,1	113,5
E	63	27,00	15,10	17,50	111,10	163,10	0,60	123,1	164,1	103,80	138,30	111,10
Destilado	20	26	14,5	18,3	113,3	165,7	0,7	179,9	155,7	107,9	129,5	113,3
B-M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E	20	26,00	14,50	18,30	113,30	165,70	0,70	180	155,7	107,90	129,50	113,30
Misto	768	24,4	13,9	16,5	110,1	158,4	0,6	111,6	164,2	101,6	136,1	110,1
B-M	573	24,5	13,9	16,5	109,8	158,5	0,6	112,4	163,8	101,7	136	109,8
E	195	23,80	13,70	16,40	110,70	158,40	0,60	109,4	165,5	101,40	136,50	110,70

B-M Baixo a moderado; E Excessivo; Lip A Lipoproteína A; n-HDL Não-HDL; B/A VAP B/VAP A; TGL Triglicerídeos; A1 VAP A1; B VAP B; LDLe LDL estimado;

* ANOVA < 0,05; † ANOVA < 0,001

Discussão

No presente estudo, demonstramos que o consumo de álcool pode resultar em níveis significantemente maiores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol. O efeito do consumo de bebida alcóolica foi similar para LDL2-colesterol, IDL-colesterol, triglicerídeo e VAPA1 para homens e mulheres. O consumo elevado de bebidas alcóolicas destiladas estava associado a maiores níveis e IDL-colesterol, LDL2-colesterol e triglicerídeos. A diferença se deu para o consumo de vinho. Os níveis lipídicos séricos em resposta ao consumo de vinho foram inversos entre os homens e mulheres. Para as mulheres, quanto maior o consumo de vinho, maiores os níveis de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol, e para homens, o contrário. No geral, nossos resultados confirmam estudos anteriores associando o consumo de álcool, independentemente do tipo de bebida, com níveis mais elevados de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol quando homens e mulheres são avaliados juntos. Entretanto, ao estratificar por sexo, observamos resultados opostos.

Os efeitos do consumo de álcool nos perfis lipídicos foram primeiramente investigados em homens. Os primeiros estudos envolvendo mulheres não envolveram análises por sexo. Os poucos estudos que avaliaram essa relação em populações separadas de homens e mulheres indicaram que a associação do consumo de álcool teve diferença entre homens e mulheres, tendo o consumo de vinho, confirmando nossos achados, aumentado os níveis de HDL-colesterol em mulheres(11,14-15). Esse resultado pode estar ligado ao fato de que as mulheres são mais sensíveis aos efeitos do álcool que o homem, principalmente no que diz respeito à função hepática. As concentrações alcóolicas também diferem entre homens e mulheres. Maiores concentrações alcóolicas são encontradas em mulheres após a ingestão da mesma quantidade de álcool. Esse efeito é atribuído ao menor metabolismo gástrico de mulheres. Neste estudo, os níveis de HDL-colesterol são maior com o consumo de bebidas destiladas em homens e em menor em mulheres, isso também já foi identificado previamente(16,17). No geral, achamos diferenças nos níveis lipídicos e o consumo de álcool em homens e mulheres, mas esses resultados não devem ser extrapolados por falta de medidas metabólicas e bioquímicas mais detalhadas.

As diferenças na resposta lipídica entre homens e mulheres são nítidas. Para

os homens, houve diferença no que diz respeito à quantidade de consumo de bebidas alcóolicas mistas para HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol, mas não para mulheres. Homens que consumiam excessivamente bebidas alcóolicas mistas estavam associados com níveis maiores de HDL-colesterol comparado aos homens que consumia em quantidade baixa a moderada. Pesquisas anteriores do ELSA-Brasil mostraram o perfil da população e demonstraram que o HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol são inversamente associados com resistência à insulina e inflamação subclínica(18), que o consumo de álcool aumentava o risco de pressão arterial elevada(19) e que o consumo de bebida alcóolica quando associado com ingestão de refeições, mostravam um perfil lipídico mais favorável(20).

Para os valores de triglicerídeos, os homens que só consumiam bebidas destiladas excessivamente tiveram valores menores. Enquanto quem bebia só cerveja, os valores foram maiores. Para as mulheres, quem consumia bebidas mistas tiveram níveis mais baixos de triglicerídeos, sendo que aquelas que bebiam excessivamente apresentaram níveis ainda mais baixos. Mulheres que consumiam bebidas alcóolicas destiladas tiveram níveis mais elevados de triglicerídeos. Existem estudos que mostram uma relação robusta entre ingestão de álcool e aumento de triglicerídeos, principalmente nos efeitos que álcool tem na variação genética, especialmente nos genes relacionados ao metabolismo do álcool(21).

Para o LDL, estudos anteriores tem demonstrado resultados conflitantes entre a relação do consumo de álcool e LDL-colesterol (22). Recentemente, foi proposto que as diferenças podem estar conectadas com variações genéticas no metabolismo de apolipoproteínas, particularmente os polimorfismos da apolipoproteína A5(21).

Embora os mecanismos para as diferenças entre os homens e mulheres não esteja totalmente compreendido, as diferenças podem ser devido à composição corporal, metabolismo da insulina e glicose, além dos fatores genéticos(23). Tamanha diferença entre os sexos é intrigante, pois o mecanismo exato pelo qual o álcool afeta as medidas lipídicas ainda permanece em grande parte desconhecido(8,24-27). Essas diferenças podem ser explicadas por diferenças genéticas, e para tanto, necessita mais estudos. Estudos clínicos e epidemiológicos sugerem que é, principalmente, o vinho tinto que ajudaria a proteger contra doenças cardiovasculares, aterosclerose e síndrome metabólica. Possivelmente, por conta dos polifenóis presentes no vinho, como o resveratrol, antocianina, flavonol e

catequina que tragam benefícios para saúde. Além deles, os próprios metabólitos podem ser os principais atores da proteção cardiovascular. Na cerveja, o xantohumol e seus metabólitos isoxantohumol e fitoestrógeno 8-fenilnaringenina também têm propriedades saudáveis. Além disso, qualquer efeito saudável do vinho e da cerveja são maiores em combinação com uma dieta saudável, rica em frutas, vegetais e cereais integrais. Há evidências de que os polifenóis têm efeitos sinérgicos com compostos encontrados em outros grupos de alimentos(28). No entanto, recomenda-se que consumidores excessivos de álcool ou abstêmios não devem ser encorajados ao consumo de álcool por efeito protetor no perfil lipídico, pois as consequências deletérias do álcool podem ser maiores do que os possíveis benefícios envolvidos.

As limitações do estudo se devem ao fato da coleta dos dados sobre consumo de álcool, que se basearam no auto-relato. Especialmente quando se trata de consumo de álcool, os participantes de pesquisa tendem a dar respostas que sejam socialmente desejáveis. Portanto, o consumo de álcool pode estar subestimado, principalmente em grupos que bebem excessivamente. O desenho do estudo também é outra limitação. Embora o ELSA-Brasil seja um estudo longitudinal, este estudo teve um corte transversal, não sendo possível fazer inferências de causalidade. Por fim, a classificação utilizada poderia subestimar os números de compulsão alcóolica episódica.

Considerações finais

No geral, este estudo mostrou que o consumo de álcool, independentemente do tipo da bebida alcóolica consumida, resultou em níveis significativamente maiores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol, tanto em mulheres como em homens. O consumo de álcool demonstrou contribuir para um melhor perfil lipídico, o que já vem sendo demonstrado na literatura. Pesquisas anteriores mostraram associação inversa entre o consumo de álcool e doenças cardiovasculares, tanto em homens quanto em mulheres.

Referências

[1] Friedman LA, Kimball AW. Coronary heart disease mortality and alcohol

consumption in Framingham. Am J Epidemiol. 1986;124(3):481-9. doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a114418.

[2] Renaud SC, Guéguen R, Siest G, Salamon R. Wine, beer, and mortality in middle-aged men from eastern France. Arch Intern Med. 1999;159(16):1865-70. doi:10.1001/archinte.159.16.1865.

[3] Keil U, Chambless LE, Döring A, Filipiak B, Stieber J. The relation of alcohol intake to coronary heart disease and all-cause mortality in a beer-drinking population. Epidemiology. 1997;8(2):150-6. doi:10.1001/jama.282.3.239.

[4] Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of moderate alcohol consumption and the risk of coronary disease and stroke in women. N Engl J Med. 1988;319(5):267-73. doi: 10.1056/NEJM198808043190503.

[5] Gaziano JM, Buring JE, Breslow JL, Goldhaber SZ, Rosner B, VanDenburgh M, et al. Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. N Engl J Med. 1993;329(25):1829-34. doi: 10.1056/NEJM199312163292501.

[6] Suh I, Shaten BJ, Cutler JA, Kuller LH. Alcohol use and mortality from coronary heart disease: the role of high-density lipoprotein cholesterol. The Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. Ann Intern Med. 1992;116(11):881-7. doi: 10.7326/0003-4819-116-11-881.

[7] Srivastava LM, Vasisht S, Agarwal DP, Goedde HW. Relation between alcohol intake, lipoproteins and coronary heart disease: the interest continues. Alcohol Alcohol. 1994;29(1):11-24. doi.org/10.1093/oxfordjournals.alcalc.a045479.

[8] Savolainen MJ, Kesäniemi YA. Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. Curr Opin Lipidol. 1995;6(4):243-50. PMID: 17326330.

[9] Patsch W, Sharrett AR, Sorlie PD, Davis CE, Brown SA. The relation of high density lipoprotein cholesterol and its subfractions to apolipoprotein A-I and fasting triglycerides: the role of environmental factors. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. Am J Epidemiol. 1992;136(5):546-57. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a116532.

[10] Rimm EB, Williams P, Fosher K, Criqui M, Stampfer MJ. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. BMJ. 1999;319(7224):1523-8. doi: https://doi.org/10.1136/bmj.319.7224.1523.

[11] Parker DR, McPhillips JB, Derby CA, Gans KM, Lasater TM, Carleton RA. High-density-lipoprotein cholesterol and types of alcoholic beverages consumed among men and women. Am J Public Health. 1996;86(7):1022-7. doi: 10.2105/AJPH.86.7.1022.

[12] Ruidavets JB, Ducimetière P, Arveiler D, Amouyel P, Bingham A, Wagner A, et al. Types of alcoholic beverages and blood lipids in a French population. J Epidemiol Community Health. 2002;56(1):24-8. doi: 10.1136/jech.56.1.24.

[13] Wannamethee SG, Shaper AG. Type of alcoholic drink and risk of major coronary heart disease events and all-cause mortality. Am J Public Health. 1999;89(5):685-90. doi: 10.2105/AJPH.89.5.685. doi:10.1001/archinte.161.11.1413.

[14] Criqui MH, Cowan LD, Heiss G, Haskell WL, Laskarzewski PM, Chambless LE. Frequency and clustering of nonlipid coronary risk factors in dyslipoproteinemia. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. Circulation. 1986;73(1 Pt 2):I40-50. doi:10.1001/archinte.161.11.1413.

[15] Weidner G, Connor SL, Chesney MA, Burns JW, Connor WE, Matarazzo JD, et al. Sex differences in high density lipoprotein cholesterol among low-level alcohol consumers. Circulation. 1991;83(1):176-80. doi: 10.1210/jc.2013-1016.

[16] Saunders JB, Davis M, Williams R. Do women develop alcoholic liver disease more readily than men? Br Med J (Clin Res Ed). 1981;282(6270):1140-3. doi.org/10.1080/09595238380000201.

[17] Frezza M, di Padova C, Pozzato G, Terpin M, Baraona E, Lieber CS. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. N Engl J Med. 1990;322(2):95-9. doi: 10.1056/NEJM199001113220205

[18] Generoso G, Bensenor IM, Santos RD, Santos IS, Goulart AC, Jones SR, et al. Association between high-density lipoprotein subfractions and low-grade inflammation, insulin resistance, and metabolic syndrome components: The ELSA-Brasil study. J Clin Lipidol. 2018. doi: 10.1016/j.jacl.2018.05.003.

[19] Santana NMT, Mill JG, Velasquez-Melendez G, Moreira AD, Barreto SM, Viana MC, et al. Consumption of alcohol and blood pressure: Results of the ELSA-Brasil study. PLoS One. 2018;13(1):e0190239. doi: 10.1371/journal.pone.0190239.

[20] Cervato AM, Vieira VL. Índices dietéticos na avaliação da qualidade global da dieta. Rev. Nutr. ed. Campinas 2003. doi: 10.1590/S1415-52732003000300012.

[21] Brinton EA. Effects of Ethanol Intake on Lipoproteins. Current Atherosclerosis

Reports. 2012;14(2):108. doi: 10.1007/s11883-012-0230-7.

[22] Perissinotto E, Buja A, Maggi S, Enzi G, Manzato E, Scafato E, Matrangelo G, Frigo AC, Coin A, Crepaldi G, Sergi G. Alcohol consumption and cardiovascular risk factors in older lifelong wine drinkers: the Italian Longitudinal Study on Aging. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2010;20(9);647-55. doi: 10.1016/j.numecd.2009.05.014.

[23] Volcik KA, Ballantyne CM, Fuchs FD, Sharrett AR, Boerwinkle E. Relationship of alcohol consumption and type of alcoholic beverage consumed with plasma lipid levels: differences between Whites and African Americans of the ARIC study. Ann Epidemiol. 2008;18(2):101-7. doi: 10.1016/j.annepidem.2007.07.103.

[24] Hines LM. Genetic modification of the effect of alcohol consumption on CHD. Proc Nutr Soc. 2004;63(1):73-9. doi: 10.1079/PNS2003321.

[25] Zakhari S. Alcohol and the cardiovascular system: molecular mechanisms for beneficial and harmful action. Alcohol Health Res World. 1997;21(1):21-9. doi.org/10.1016/j.jacc.2005.02.075

[26] Camargo CA, Hennekens CH, Gaziano JM, Glynn RJ, Manson JE, Stampfer MJ. Prospective study of moderate alcohol consumption and mortality in US male physicians. Arch Intern Med. 1997;157(1):79-85. doi:10.1001/archinte.1997.00440220083011.

[27] Rimm EB, Giovannucci EL, Willett WC, Colditz GA, Ascherio A, Rosner B, et al. Prospective study of alcohol consumption and risk of coronary disease in men. Lancet. 1991;338(8765):464-8. doi:https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)90542-W.

[28] Arranz S, Chiva-Blanch G, Valderas-Martínez P, Medina-Remón A, Lamuela-Raventós RM, Estruch R. Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. Nutrients. 2012;4(7):759–781. doi:10.3390/nu4070759

CONCLUSÃO

5. Conclusão

Análises entre hábitos de vida e impacto no colesterol são obscuras, com inúmeras variáveis e fatores de risco que se correlacionam e impactam direta e indiretamente na saúde cardiovascular de forma complexa. Para a presente tese, avaliou-se a associação entre dieta, em especial ácidos graxos dietéticos, e álcool e o perfil lipídico de participantes do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil).

Foi identificada baixa associação entre a ingestão de ácidos graxos dietéticos e perfil lipídico (manuscrito 1) e quanto ao consumo de álcool, independentemente do tipo de bebida alcóolica consumida, o álcool resultou em melhor perfil lipídico, com níveis significativamente maiores de HDL-colesterol, HDL2-colesterol e HDL3-colesterol, tanto em homens quanto mulheres. Os triglicerídeos tiveram efeitos inversos para homens e mulheres no perfil lipídico.

Conclui-se, portanto, que são necessários maiores estudos para confirmar o efeito dos hábitos de vida no perfil lipídico e que não só a alimentação, mas também outros fatores como atividade física e genética, que poderiam interferir nos resultados. Também se pode depreender que existe impacto da variabilidade biológica na resposta ao colesterol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. Referências bibliográficas

ANDERSEN, I. R. et al. Increased VLDL-TG Fatty Acid Storage in Skeletal Muscle in Men With Type 2 Diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 102(3), p. 831-839, 2017. Disponível em: < https://academic.oup.com/jcem/article/102/3/831/3061910 >.

AQUINO, E. et al. Ethical issues in longitudinal studies: the case of ELSA-Brasil. **Revista de Saúde Pública,** v. 47, p. 19-26, 2013.

AQUINO, E. M. et al. Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design. **Am J Epidemiol,** v. 175, n. 4, p. 315-24, Feb 2012. ISSN 1476-6256. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22234482 >.

ASCHERIO, A.; KATAN, M. B.; ZOCK, P. L.; STAMPFER, M. J.; WILLETT, W. C. Trans fatty acids and coronary heart disease. **N Engl J Med**. v. 340, n. 25, p. 1994-8. Jun 1999. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10379026 >.

BAER, D. J.; JUDD, J. T.; CLEVIDENCE, B. A.; TRACY, R. P. Dietary fatty acids affect plasma markers of inflammation in healthy men fed controlled diets: a randomized crossover study. Am. J. Clin. Nutr. 79:969–73, 2004. Disponível em: < https://academic.oup.com/ajcn/article/79/6/969/4690257 >.

BLESSO, C. N.; FERNANDEZ, M. L. Dietary Cholesterol, Serum Lipids, and Heart Disease: Are Eggs Working for or Agains You? **Nutrients**, v. 10(4), 2018. Disponível em: < https://www.mdpi.com/2072-6643/10/4/426 >.

BOGL, L. H. et al. Association between habitual dietary intake and lipoprotein subclass profile in healthy young adults. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 23(11), p. 1071-78. Disponível em: < https://www.nmcd-journal.com/article/S0939-4753(12)00265-7/fulltext>.

CAMARGO, C. A. et al. Prospective study of moderate alcohol consumption and mortality in US male physicians. **Arch Intern Med,** v. 157, n. 1, p. 79-85, Jan 1997. ISSN 0003-9926. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8996044 >.

CASTELLI, W. P.; ABBOTT, R. D.; MCNAMARA, P. M. Sumamry estimates of cholesterol used to predict coronary heart disease. **Circulation**, v. 64, n. 4, p. 730-4, Apr 1983. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6825228 >.

CERVATO, A. M.; VIEIRA, V. L. Índices dietéticos na avaliação da qualidade global da dieta. **Campinas** 16 2003.

CHOR, D. et al. [Questionnaire development in ELSA-Brasil: challenges of a multidimensional instrument]. **Rev Saude Publica,** v. 47 Suppl 2, p. 27-36, Jun 2013. ISSN 1518-8787. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24346718 >.

_____. [Social network and social support measures from the Pró-Saúde Study: pre-tests and pilot study]. **Cad Saude Publica,** v. 17, n. 4, p. 887-96, 2001 Jul-Aug

2001. ISSN 0102-311X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11514869 >.

COLDITZ, G. A.; MANSON, J. E.; HANKINSON, S. E. The Nurses' Health Study: 20-year contribution to the understanding of health among women. **J Womens Health,** v. 6, n. 1, p. 49-62, Feb 1997. ISSN 1059-7115. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9065374 >.

COLLABORATORS, G. M. A. C. O. D. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **Lancet,** v. 388, n. 10053, p. 1459-1544, Oct 2016. ISSN 1474-547X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27733281 >.

COUGHLIN, S. S.; BEAUCHAMP, T. L. **Ethics and epidemiology**. New York: Oxford University Press, 1996. x, 312 p. ISBN 9780195102420 (alk. paper)

CRIQUI, M. H. et al. Frequency and clustering of nonlipid coronary risk factors in dyslipoproteinemia. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. **Circulation,** v. 73, n. 1 Pt 2, p. I40-50, Jan 1986. ISSN 0009-7322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3940683 >.

Curb JD, Marcus EB. Body fat and obesity in Japanese Americans. **Am J Clin Nutr**. 1991 Jun;53(6 Suppl):1552s-5s. Disponível em: < https://academic.oup.com/ajcn/articleabstract/53/6/1552S/4732410?redirectedFrom=fulltext>

D'AGOSTINO, R. B. et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. **Circulation,** v. 117, n. 6, p. 743-53, Feb 2008. ISSN 1524-4539. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18212285 >.

DE AZEVEDO BARROS, M. B. et al. Social inequalities in health behaviors among Brazilian adults: National Health Survey, 2013. **Int J Equity Health,** v. 15, n. 1, p. 148, 11 2016. ISSN 1475-9276. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27852275 >.

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA, S. D. C., TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS, M.NISTÉRIO DA SAÚDE. [ELSA Brasil: the greatest epidemiological study in Latin America]. **Rev Saude Publica,** v. 43, n. 1, Feb 2009. ISSN 1518-8787. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19169569 >.

DUNCAN, B. B. et al. [Chronic non-communicable diseases in Brazil: priorities for disease management and research]. **Rev Saude Publica,** v. 46 Suppl 1, p. 126-34, Dec 2012. ISSN 1518-8787. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23532314 >.

FEDELI, L. G. et al. [Logistics of collection and transportation of biological samples and the organization of the central laboratory in the ELSA-Brasil]. **Rev Saude Publica,** v. 47 Suppl 2, p. 63-71, Jun 2013. ISSN 1518-8787. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24346722 >.

Feinleib M. Seven countries: A multivariate analysis of death and coronary heart disease. **JAMA**. 1981;245(5):511-2. Disponível em : < https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/373603>.

FREZZA, M. et al. High blood alcohol levels in women. The role of decreased gastric alcohol dehydrogenase activity and first-pass metabolism. **N Engl J Med,** v. 322, n. 2, p. 95-9, Jan 1990. ISSN 0028-4793. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2248624 >.

FRIEDMAN, L. A.; KIMBALL, A. W. Coronary heart disease mortality and alcohol consumption in Framingham. **Am J Epidemiol,** v. 124, n. 3, p. 481-9, Sep 1986. ISSN 0002-9262. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3740047 >.

GARCIA, L. P. et al. [Alcohol use as a necessary cause of death in Brazil, 2010-2012]. **Rev Panam Salud Publica,** v. 38, n. 5, p. 418-24, Nov 2015. ISSN 1680-5348. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26837528 >.

GAZIANO, J. M. et al. Moderate alcohol intake, increased levels of high-density lipoprotein and its subfractions, and decreased risk of myocardial infarction. **N Engl J Med,** v. 329, n. 25, p. 1829-34, Dec 1993. ISSN 0028-4793. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8247033 >.

GENEROSO, G. et al. Association between high-density lipoprotein subfractions and low-grade inflammation, insulin resistance, and metabolic syndrome components: The ELSA-Brasil study. **J Clin Lipidol**, May 2018. ISSN 1933-2874. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29941395 >.

GINSBERG, H. N. et al. Reduction of plasma cholesterol levels in normal men on an American Heart Association Step 1 diet or a Step 1 diet with added monounsaturated fat. **N Engl J Med**. v. 322, n. 9, p. 574-9, Mar 1990. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2304504 >.

Global Burden of Disease 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet. 2018;392:10152:P1015-1035. Disponível em: < https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(18)31310-2/fulltext>

Global Burden of Disease 2017 Cause of Death Collaborators Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet. 2018;392:1736–1788. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6227606/pdf/main.pdf>.

Global Burden of Disease 2017 Risk Factor Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet 2018; 392: 1923–94. Disponível em : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5614451/pdf/main.pdf.

GRITTNER, U. et al. Social inequalities and gender differences in the experience of alcohol-related problems. **Alcohol Alcohol,** v. 47, n. 5, p. 597-605, 2012 Sep-Oct 2012. ISSN 1464-3502. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22542707 >.

GUIMARÃES, R. M. et al. [Regional differences in cardiovascular mortality transition in Brazil, 1980 to 2012]. **Rev Panam Salud Publica,** v. 37, n. 2, p. 83-9, Feb 2015. ISSN 1680-5348. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25915012 >.

HEGSTED, D. M. Serum-cholesterol response to dietary cholesterol: a re-evaluation. **Am. J. Clin. Nutr**. v. 44, n. 2, p. 299-305, Aug 1986. Disponível em: < https://academic.oup.com/ajcn/articleabstract/44/2/299/4691967?redirectedFrom=fulltext >

HENDRANI, A. D. et al. Dyslipidemia management in primary prevention of cardiovascular disease: Current guidelines and strategies. **World J Cardiol,** v. 8, n. 2, p. 201-10, Feb 2016. ISSN 1949-8462. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26981215 >.

HINES, L. M. Genetic modification of the effect of alcohol consumption on CHD. **Proc Nutr Soc,** v. 63, n. 1, p. 73-9, Feb 2004. ISSN 0029-6651. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15070440 >.

HUANG, J.; WANG, X.; ZHANG, Y. Specific types of alcoholic beverage consumption and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **J Diabetes Investig,** v. 8, n. 1, p. 56-68, Jan 2017. ISSN 2040-1124. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27181845 >.

HWANG, Y.C. et al. Higher High Density Lipoprotein 2 (HDL2) to Total HDL Cholesterol Ratio Is Associated with a Lower Risk for Incident Hypertension. **Diabetes Metab J**, v. 43(1), p. 114-122. Disponível em: https://e-dmj.org/DOIx.php?id=10.4093/dmj.2018.0053.

JARAUTA, E. et al. Lipid phenotype and heritage pattern in families with genetic hypercholesterolemia not related to LDLR, APOB, PCSK9, or APOE, **Journal of Clinical Lipidology,** v. 10(6), p. 1397-1405. Disponível em: < https://www.lipidjournal.com/article/S1933-2874(16)30341-5/fulltext >.

KALINOWSKI, A.; HUMPHREYS, K. Governmental standard drink definitions and low-risk alcohol consumption guidelines in 37 countries. **Addiction,** v. 111, n. 7, p. 1293-8, 07 2016. ISSN 1360-0443. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27073140 >.

KEIL, U. et al. The relation of alcohol intake to coronary heart disease and all-cause mortality in a beer-drinking population. **Epidemiology,** v. 8, n. 2, p. 150-6, Mar 1997. ISSN 1044-3983. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9229206 >.

KEYS, A. Serum-cholesterol response to dietary cholesterol. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 40, n. 2, p. 351-59, Aug 1984. Disponível em: < https://academic.oup.com/ajcn/articleabstract/40/2/351/4691331?redirectedFrom=fulltext >.

KULKARNI, K. R. Cholesterol profile measurement by vertical auto profile method. **Clin Lab Med,** v. 26, n. 4, p. 787-802, Dec 2006. ISSN 0272-2712. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17110240 >.

KULKARNI, K. R. et al. Quantification of cholesterol in all lipoprotein classes by the VAP-II method. **J Lipid Res,** v. 35, n. 1, p. 159-68, Jan 1994. ISSN 0022-2275. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8138718 >.

LAAKSO, P.; MANNINEN, P. Identification of milk fat triacylglycerols by capillary supercritical fluid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. **Lipids,** v. 32, n. 12, p. 1285-95, Dec 1997. ISSN 0024-4201. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9438239 >.

LARANJEIRA, R. et al. Alcohol use patterns among Brazilian adults. **Braz J Psychiatry,** v. 32, n. 3, p. 231-41, Sep 2010. ISSN 1516-4446. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19918673 >.

Lichtenstein AH, Ausman LM, Jalbert SM, Schaefer EJ. 1999. Effects of different forms of dietary hydrogenated fats on serum lipoprotein cholesterol levels in moderately hypercholesterolemic female and male subjects. **N Engl J Med** v. 340, n. 25, p. 1933–40. Disponível em: < https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199906243402501?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dwww.ncbi.nlm.nih.gov >.

LOTUFO, P. A. Construção do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil). **Revista de Saúde Pública,** v. 47, p. 3 - 9, 2013.

MALTA, D. C.; SILVA JR., J. B. D. Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil após três anos de implantação, 2011-2013: **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. 23**:** 389-395 p. 2014.

MARTIN, S. S. Remnant Lipoprotein Cholesterol and Mortality After Acute Myocardial Infarction: Further Evidence for a Hypercholesterolemia Paradox From the TRIUMPH Registry, **Clinical Investigations**, v. 38(11), p. 660-7, 2015. Disponível em: < https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/clc.22470 .

MARTÍNEZ, E. O. G.; LUFT, V. C.; FARIA, C. P.; MOLINA, M. D. C. B. Alcohol consumption and lipid profile in participants of the Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). **Nutr Hosp,** 2019. Disponível em: < file:///C:/Users/usuario/Downloads/CO-WM-02260-03.pdf >.

MASCARENHAS, M. D. et al. Emergency room visits due to external causes and alcohol consumption--Capitals and the Federal District, Brazil, 2011. **Cien Saude**

Colet, v. 20, n. 4, p. 1037-46, Apr 2015. ISSN 1678-4561. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25923616 >.

MAY, A. L.; KUKLINA, E. V.; YOON, P. W. Prevalence of cardiovascular disease risk factors among US adolescents, 1999-2008. **Pediatrics,** v. 129, n. 6, p. 1035-41, Jun 2012. ISSN 1098-4275. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22614778 >.

MENSINK, R. P.; KATAN, M. B. Effect of monounsaturated fatty acids versus complex carbohydrates on high-density lipoprotein in health men and women. **Lancet**. v. 1, n. 8525, p. 122-5, Jan 1987. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2879969 >.

MENSINK, R. P.; KATAN, M. B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 27 trials. **Arterioscler Thromb.** v. 12, n. 8, p. 911-9, Aug 1992. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1386252 >.

MENSINK, R. P.; ZOCK, P. L.; KESTER, A. D.; KATAN, M. B. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **Am J Clin Nutr**. v. 77, n. 5, p. 1146-55, May 2003. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12716665 >.

Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf >.

Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. 2010. Disponível em: < https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv50063.pdf>

MOLINA, M. D. C. B. et al. Diet assessment in the Brazilian Longitudinal Study of Adulth Health (ELSA-Brasil): Development of a food frequency questionnaire. Campinas: **Revista de Nutrição**. 26**:** 167-17 p. 2013.

MOLINA, M. E. C. et al. [Reproducibility and relative validity of the Food Frequency Questionnaire used in the ELSA-Brasil]. **Cad Saude Publica,** v. 29, n. 2, p. 379-89, Feb 2013. ISSN 1678-4464. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23459823 >.

MOZAFFARIAN, D.; RIMM, E.B.; KING, I.B.; LAWLER, R.L.; MCDONALD, G.B.; LEVY, W.C. Trans fatty acids and systemic inflammation in heart failure. **Am J Clin Nutr**. v. 80, n. 6, p. 1521–25. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15585763 >.

NELSON, R. H. Hyperlipidemia as a risk factor for cardiovascular disease. **Prim Care,** v. 40, n. 1, p. 195-211, Mar 2013. ISSN 1558-299X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23402469 >.

NESTEL, P.; NOAKES, M.; BELLING, B.;; MCARTHUR, R.; CLIFTON, P. Plasma lipoprotein and Lp[a] changes with substitution of elaidic acid for oleic acid in the diet. **J Lipid Res**. v. 33, n. 7, p. 1029-36, Jul 1992. Disponível em: < http://www.jlr.org/content/33/7/1029.long >.

ORGANIZATION, W.-W. H. Preventing chronic diseases: a vital investment: **WHO global report 2005**.

OWEN, J. M.; WOODS, P. Designing and implementing a large-scale automated -80 degrees C archive. **Int J Epidemiol,** v. 37 Suppl 1, p. i56-61, Apr 2008. ISSN 1464-3685. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18381395 >.

PARKER, D. R. et al. High-density-lipoprotein cholesterol and types of alcoholic beverages consumed among men and women. **Am J Public Health,** v. 86, n. 7, p. 1022-7, Jul 1996. ISSN 0090-0036. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8669505 >.

PATSCH, W. et al. The relation of high density lipoprotein cholesterol and its subfractions to apolipoprotein A-I and fasting triglycerides: the role of environmental factors. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Am J Epidemiol,** v. 136, n. 5, p. 546-57, Sep 1992. ISSN 0002-9262. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1442718 >.

PEREIRA, A. C. et al. [Design and implementation of the ELSA-Brasil biobank: a prospective study in a Brazilian population]. **Rev Saude Publica,** v. 47 Suppl 2, p. 72-8, Jun 2013. ISSN 1518-8787. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24346723 >.

RENAUD, S. C. et al. Wine, beer, and mortality in middle-aged men from eastern France. **Arch Intern Med,** v. 159, n. 16, p. 1865-70, Sep 1999. ISSN 0003-9926. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10493316 >.

Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012.

RIBEIRO, A. G.; COTTA, R. M.; RIBEIRO, S. M. [The promotion of health and integrated prevention of risk factors for cardiovascular diseases]. **Cien Saude Colet,** v. 17, n. 1, p. 7-17, Jan 2012. ISSN 1678-4561. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22218533 >.

RIMM, E. B. et al. Prospective study of alcohol consumption and risk of coronary disease in men. **Lancet,** v. 338, n. 8765, p. 464-8, Aug 1991. ISSN 0140-6736. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1678444 >.

_____. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. **BMJ,** v. 319, n. 7224, p. 1523-8,

Dec 1999. ISSN 0959-8138. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10591709 >.

RUIDAVETS, J. B. et al. Types of alcoholic beverages and blood lipids in a French population. **J Epidemiol Community Health,** v. 56, n. 1, p. 24-8, Jan 2002. ISSN 0143-005X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11801616 >.

SANTANA, N. M. T. et al. Consumption of alcohol and blood pressure: Results of the ELSA-Brasil study. **PLoS One,** v. 13, n. 1, p. e0190239, 2018. ISSN 1932-6203. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29309408 >.

SAUNDERS, J. B.; DAVIS, M.; WILLIAMS, R. Do women develop alcoholic liver disease more readily than men? **Br Med J (Clin Res Ed),** v. 282, n. 6270, p. 1140-3, Apr 1981. ISSN 0267-0623. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6786474 >.

SAVOLAINEN, M. J.; KESÄNIEMI, Y. A. Effects of alcohol on lipoproteins in relation to coronary heart disease. **Curr Opin Lipidol,** v. 6, n. 4, p. 243-50, Aug 1995. ISSN 0957-9672. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7670754 >.

SAÚDE, M. D.; SAÚDE, C. N. D.; PESQUISA, C. N. D. É. E. Normas de pesquisa envolvendo seres humanos - Res. CNS 196/96. 1996.

SCHAAN, B. D.; HARZHEIM, E.; GUS, I. [Cardiac risk profile in diabetes mellitus and impaired fasting glucose]. **Rev Saude Publica,** v. 38, n. 4, p. 529-36, Aug 2004. ISSN 0034-8910. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15311293 >.

SILVEIRA, C. M. et al. Gender differences in drinking patterns and alcohol-related problems in a community sample in São Paulo, Brazil. **Clinics (Sao Paulo),** v. 67, n. 3, p. 205-12, 2012. ISSN 1980-5322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22473399 >.

SIQUEIRA, A. S. E.; SIQUEIRA-FILHO, A. G.; LAND, M. G. P. Analysis of the Economic Impact of Cardiovascular Diseases in the Last Five Years in Brazil. **Arq Bras Cardiol,** v. 109, n. 1, p. 39-46, 07 2017. ISSN 1678-4170. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28591251 >.

SRIVASTAVA, L. M. et al. Relation between alcohol intake, lipoproteins and coronary heart disease: the interest continues. **Alcohol Alcohol,** v. 29, n. 1, p. 11-24, Jan 1994. ISSN 0735-0414. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8003112 >.

STAMPFER, M. J. et al. A prospective study of moderate alcohol consumption and the risk of coronary disease and stroke in women. **N Engl J Med,** v. 319, n. 5, p. 267-73, Aug 1988. ISSN 0028-4793. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3393181 >.

SUH, I. et al. Alcohol use and mortality from coronary heart disease: the role of high-density lipoprotein cholesterol. The Multiple Risk Factor Intervention Trial Research

Group. **Ann Intern Med,** v. 116, n. 11, p. 881-7, Jun 1992. ISSN 0003-4819. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1580443 >.

Tunstall-Pedoe H. The WHO MONICA Project. MONICA Monograph and MultimediaSourcebook. Geneva: World Health Organization; 2003. Disponível em: < http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42597/9241562234.pdf;jsessionid=4AD84B2F40831A32C68459A2984E225C?sequence=1 >.

TSOMPANIDI, E. M. et al. HDL biogenesis and functions: role of HDL quality and quantity in atherosclerosis. **Atherosclerosis,** v. 208, n. 1, p. 3-9, Jan 2010. ISSN 1879-1484. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19595353 >.

YEANG; CLOPTON, P. C.; TSIMIKAS, S. Lipoprotein(a)-cholesterol levels estimated by vertical auto profile correlate poorly with Lp(a) mass in hyperlipidemic subjects: Implications for clinical practice interpretation of Lp(a)-mediated risk. **Journal of Clinical Lipidology,** v. 10(6), p. 1389-96. Disponível em: < https://www.lipidjournal.com/article/S1933-2874(16)30342-7/pdf >.

VERSCHUREN, W. M. et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. **JAMA,** v. 274, n. 2, p. 131-6, Jul 1995. ISSN 0098-7484. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7596000 >.

VILAHUR, G. et al. Perspectives: The burden of cardiovascular risk factors and coronary heart disease in Europe and worldwide. **European Heart Journal,** 16**:** A7–A11 p. 2014.

VOLCIK, K. A. et al. Relationship of alcohol consumption and type of alcoholic beverage consumed with plasma lipid levels: differences between Whites and African Americans of the ARIC study. **Ann Epidemiol,** v. 18, n. 2, p. 101-7, Feb 2008. ISSN 1047-2797. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17855114 >.

VU, K. N. et al. Causal Role of Alcohol Consumption in an Improved Lipid Profile: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **PLoS One,** v. 11, n. 2, p. e0148765, 2016. ISSN 1932-6203. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26849558 >.

WAKABAYASHI, I. Influence of gender on the association of alcohol drinking with blood pressure. **Am J Hypertens,** v. 21, n. 12, p. 1310-7, Dec 2008. ISSN 1941-7225. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18927544 >.

WANG, D. D; HU, F. B. Dietary Fat and Risk of Cardiovascular Disease: Recent Controversies and Advances. **Annual Review of Nutrition.** V37, p. 423-46, Aug 2017. ISSN 1938-3207. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dietary+Fat+and+Risk+of+Cardiovascular+Disease%3A+Recent+Controversies+and+Advances.

WANNAMETHEE, S. G.; SHAPER, A. G. Type of alcoholic drink and risk of major coronary heart disease events and all-cause mortality. **Am J Public Health,** v. 89, n.

5, p. 685-90, May 1999. ISSN 0090-0036. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10224979 >.

WEIDNER, G. et al. Sex differences in high density lipoprotein cholesterol among low-level alcohol consumers. **Circulation,** v. 83, n. 1, p. 176-80, Jan 1991. ISSN 0009-7322. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1984880 >.

WILLET, W. C.; HOWE, G. R.; KUSHI, L. H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. **Am J Clin Nutr**, v. 65 (Supl. 4), p. 1220S-8S – 9S-31S, Apr 1997. ISSN 1938-3207. Disponível em: < https://watermark.silverchair.com/1220s.pdf?>.

WILLET, W. C.; STAMPFER, M. J. Current evidence on healthy eating. **Annu Rev Public Health**, v. 34, p. 77-95, Jan 2013. Disponível em: < https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-publhealth-031811-124646>.

WOLF, S. M. et al. Managing incidental findings in human subjects research: analysis and recommendations. **J Law Med Ethics,** v. 36, n. 2, p. 219-48, 211, 2008. ISSN 1073-1105. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18547191 >.

ZAKHARI, S. Alcohol and the cardiovascular system: molecular mechanisms for beneficial and harmful action. **Alcohol Health Res World,** v. 21, n. 1, p. 21-9, 1997. ISSN 0090-838X. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15706760 >.

ANEXOS

6. Anexos

Anexo I: Questionário de Frequência Alimentar aplicado

"Agora vamos falar sobre a sua alimentação habitual dos últimos 12 meses. Gostaríamos de saber o que o (a) Sr (a) come e bebe por dia, por semana ou por mês, como está nesse cartão. [Apresente o cartão]

Vou ler alimento por alimento. Diga quais o(a) Sr(a) come ou bebe e em que quantidade.

Para auxiliar na quantificação dos alimentos e bebidas, vamos utilizar esses utensílios. [Apresente os utensílios]. Podemos começar?"

"Vou iniciar listando os alimentos do GRUPO dos PÃES, CEREAIS E TUBÉRCULOS. Por favor, refira sobre seu consumo habitual dos últimos 12 meses"

"Com que freqüência o(a) Sr(a) come ou bebe [diga o nome do alimento]?". Se não especificar freqüência, pergunte: **"Quantas vezes por dia, semana ou mês?". "E quantas [diga a medida caseira correspondente, mostrando o utensílio] o(a) Sr(a) come ou bebe?".** Repita essas instruções para todos os alimentos.

	Alimento		Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
1.	Arroz	( ) Integral ( ) Branco	_____ Colher de servir									
2.	Aveia/Granola/Farelos/Outros cereais		_____ Colher sopa cheia									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
3.	Farinha de Mandioca/Farinha de Milho	_____ Colher sopa cheia									
4.	Farofa/Cuscuz salgado/Cuscuz paulista	_____ Colher sopa cheia									
5.	Pão light (branco ou integral)	_____ Fatia									
6.	Pão francês/pão de Forma/ Pão sírio/Pão torrado	_____ Unidade (50g)									
7.	Pão doce/Pão Caseiro	_____ Unidade média									
8.	Pão Integral/ Centeio	_____ Fatia									
9.	Pão de queijo	_____ Unidade média									
10.	Bolo simples (sem recheio)	_____ Fatia média									
11.	Bolo recheado/ Torta/Pavê [Cuca]	_____ Fatia média									
12.	Biscoito salgado (tipo água e sal e outros)	_____ Unidade									
13.	Biscoito doce ( ) com recheio ( ) sem recheio	_____ Unidade									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
14.	Polenta/Angu/Pirão	_____ Colher de servir									
15.	Batata frita/Mandioca frita/Banana frita/Polenta frita/batata doce frita	_____ Tigela									
16.	Mandioca [Aipim] /Inhame/Cará, Banana da terra cozida/Batata doce cozida	_____ Pedaço médio									
17.	Batata inglesa cozida/ Batata ensopada/purê	_____ Colher sopa cheia									

"Agora vou listar os alimentos do GRUPO das FRUTAS. Por favor, refira sobre seu consumo habitual dos últimos 12 meses"

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
18.	Laranja/Mexerica/ Tangerina/Pokan [Bergamota]	_____ Unidade média									
19.	Banana	_____ Unidade média									
20.	Mamão/Papaia	_____ Unidade média									
21.	Maçã/Pêra	_____ Unidade média									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
22.	Melancia	_____ Fatia média									
23.	Melão	_____ Fatia média									
24.	Abacaxi	_____ Fatia média									
25.	Abacate	_____ Unidade média									
26.	Manga	_____ Unidade média									
27.	Uva	_____ Unidade média									
28.	Goiaba	_____ Unidade média									
29.	Morango	_____ Unidade média									
30.	Pêssego/Ameixa/Kiwi/ Caju/Cajá/Nectarina	_____ Unidade média									

	Alimento		Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
31.	Caqui/Jaca/Pinha/Fruta do conde		_____ Unidade média									
32.	Salada de frutas	( ) com açúcar ou complementos ( ) sem açúcar ou complementos	_____ Tigela									

"Agora vou listar os alimentos do GRUPO das VERDURAS, LEGUMES e LEGUMINOSAS. Por favor, refira sobre seu consumo habitual dos últimos 12 meses"

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
33.	Alface	_____ Pegador cheio									
34.	Couve/espinafre refogado	_____ Colher sopa cheia									
35.	Repolho	_____ Pegador cheio									
36.	Chicória/Agrião/Rúcula/Couve crua/Almeirão/Escarola/Acelga crua/Espinafre cru	_____ Pegador cheio									
37.	Tomate	_____ Rodela média									
38.	Abóbora	_____ Colher sopa cheia									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
39.	Abobrinha/Chuchu/ Berinjela	_____ Colher sopa cheia									
40.	Vagem	_____ Colher sopa cheia									
41.	Quiabo	_____ Colher sopa cheia									
42.	Cebola	***Anote só a freqüência***									
43.	Alho										
44.	Cenoura	_____ Colher sopa cheia									
45.	Beterraba	_____ Rodela média									
46.	Couve-flor	_____ Ramo médio									
47.	Brócolis	_____ Ramo médio									
48.	Milho Verde	_____ Colher sopa cheia									
49.	Feijão (preto, vermelho, branco, de corda, etc)	_____ Concha Cheia									
50.	Feijoada/Feijão tropeiro	_____ Concha Cheia									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
51.	Lentilha/Grão de bico/Ervilha	_____ Concha Cheia									

"Agora vou listar os alimentos do GRUPO dos OVOS, CARNES, LEITE E DERIVADOS. Por favor, refira sobre seu consumo habitual dos últimos 12 meses"

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
52.	Ovo cozido/Pochê	_____ Unidade									
53.	Ovo frito/ omelete/mexido	_____ Unidade									
54.	Maionese ( ) light ( ) comum	_____ Colher sopa cheia									
55.	Leite ( ) desnatado ( ) semi-desnatado ( ) integral ( ) de soja	_____ Copo de requeijão									
56.	Iogurte ( ) light ( ) normal	_____ Unidade média									
57.	Queijos Brancos (Minas frescal/Ricota/Cottage)	_____ Fatia média									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
58.	Queijos Amarelos (Minas padrão/Muçarela/Prato/ Cheddar/processado tipo Polenghi/Canastra, etc.)	_____ Fatia média									
59.	Requeijão ( ) light ( ) normal	_____ Colher sopa cheia									
60.	Margarina/creme vegetal	_____ Ponta de faca									
61.	Manteiga	_____ Ponta de faca									
62.	Fígado/Miúdos	_____ Unidade									
63.	Bucho/dobradinha	_____ Concha cheia									
64.	Carne de boi com osso (Mocotó/Costela/Rabo)	_____ Pedaço									
65.	Carne de boi sem osso (bife, carne moída, ensopada)	_____ Bife médio									
66.	Carne de porco	_____ Pedaço médio									
67.	Peito de frango/ Chester/Peru/etc	_____ Bife/filé médio									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
68.	Frango Frito (Outras partes)	_____ Pedaço médio									
69.	Frango cozido (Outras partes)	_____ Pedaço médio									
70.	Lingüiça/ Chouriço [Salsichão]	_____ Unidade média									
71.	Hambúrguer (bife)	_____ Unidade média									
72.	Frios light (blanquet/Peito de peru/Peito de chester)	_____ Fatia média									
73.	Presunto/Mortadela/ Copa/Salame/Patê/etc	_____ Fatia média									
74.	Bacon/Toucinho/Torresmo	_____ Fatia média									
75.	Peixe cozido [moqueca capixaba]/peixe assado/ensopado/grelhado	_____ Filé/posta média									
76.	Peixe frito	_____ Filé/posta média									
77.	Sardinha/Atum	_____ Lata									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
78.	Camarão/mariscos	_____ Colher sopa cheia									
79.	Caranguejo/Siri	_____ Unidade média									
	"Agora vou listar os alimentos do GRUPO das MASSAS e OUTRAS PREPARAÇÕES. Por favor, refira sobre seu consumo habitual dos últimos 12 meses"										
	Alimento	**Quantidade consumida por vez**	**Mais de 3x/dia**	**2 a 3x/dia**	**1x/dia**	**5 a 6x semana**	**2 a 4x semana**	**1x semana**	**1 a 3x/mês**	**Nunca/ quase nunca**	**Referiu consumo sazonal**
80.	Pizza	_____ Pedaço									
81.	Macarrão (caneloni, lasanha, ravioli, [tortei])	_____ Escumadeira cheia									
82.	Macarrão instantâneo	_____ Pacote									
83.	Salgados assados (Esfirra,/Empada/ Empanada/Pastel de forno/etc)	_____ Unidade média									
84.	Salgados fritos (quibe/pastel/ coxinha)	_____ Unidade média									

	Alimento		Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
85.	Acarajé		_____ Unidade média									
86.	Cachorro-quente		_____ Unidade média									
87.	Pipoca		_____ Saco médio									
88.	Estrogonofe		_____ Colher sopa cheia									
89.	Comida bahiana	( ) Vatapá ( ) Caruru ( ) moqueca bahiana	_____ Colher sopa cheia									
90.	Comida japonesa	( ) sushi, sashimi, tofu ( ) Yakisoba	_____ Tigela cheia									
91.	Sopa de Legumes		_____ Concha cheia									
92.	Sopa instantânea		_____ Concha cheia									
93.	Salada de legumes com maionese		_____ Colher sopa cheia									
94.	Barra de cereais		_____ Unidade									

	"Agora vou listar os DOCES. Por favor, refira sobre seu consumo habitual dos últimos 12 meses"											
	Alimento		Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
95.	Sorvete cremoso		_____ Bola média									
96.	Picolé de frutas		_____ Unidade									
97.	Caramelo/Bala		_____ Unidade									
98.	Gelatina	( ) Diet/Light ( ) normal	_____ Tigela									
99.	Chocolate em pó/ Achocolatado em pó/Capuccino		_____ Colher de sobremesa cheia									
100.	Chocolate em barra/ Bombom, Brigadeiro [Negrinho], Doce de leite/ Docinho de festa		_____ Unidade (30g)									
101.	Pudim/Doce à base de leite/Mousse		_____ Colher sopa cheia									
102.	Doce de Fruta [chimia] Geléia	( ) Diet/Light ( ) normal	_____ Colher sopa cheia									
103.	Mel/Melado		_____ Colher sopa cheia									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
104.	Nozes/castanha de caju/ castanha do Pará/ Amendoim/ Amêndoas/ Pistache	_____ Punhado									
	"Agora vou listar as BEBIDAS. Por favor, refira sobre seu consumo habitual dos últimos 12 meses"										
	Alimento	**Quantidade consumida por vez**	**Mais de 3x/dia**	**2 a 3x/dia**	**1x/dia**	**5 a 6x semana**	**2 a 4x semana**	**1x semana**	**1 a 3x/mês**	**Nunca/ quase nunca**	**Referiu consumo sazonal**
105.	Refrigerante ( ) Diet/Light ( ) normal	_____ Copo de requeijão									
106.	Café ( ) com açúcar ( ) sem açúcar ( ) com adoçante	_____ xícara de café									
107.	Suco Natural ( ) com açúcar ( ) sem açúcar ( ) com adoçante	_____ Copo de requeijão									
108.	Suco industrializado ( ) com açúcar ( ) sem açúcar ( ) com adoçante	_____ Copo de requeijão									

	Alimento	Quantidade consumida por vez	Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x semana	2 a 4x semana	1x semana	1 a 3x/mês	Nunca/ quase nunca	Referiu consumo sazonal
109.	Suco Artificial ( ) com açúcar ( ) sem açúcar ( ) com adoçante	_____ Copo de requeijão									
110.	Chá/mate ( ) com açúcar ( ) sem açúcar ( ) com adoçante	_____ Xícara de chá									
111.	Chimarrão	_____ Garrafa térmica									
112.	Cerveja	_____ Copo americano									
113.	Vinho ( ) Tinto ( ) Branco	_____ Taça									
114.	Bebidas alcoólicas destiladas (cachaça, whisky, vodka)	_____ Dose									
115.	Água de Côco	_____ Unidade [côco]									

s próximas perguntas se referem aos seus hábitos alimentares.

01. Com que freqüência o(a) Sr(a) costuma comer no refeitório/restaurante (universitário ou não) no horário de trabalho?

Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x /semana	2 a 4x/semana	1x/semana	1 a 3x/mês	Nunca/quase nunca

02. Com que freqüência o(a) Sr(a) costuma comer em restaurantes fora do horário de trabalho?

Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x /semana	2 a 4x/semana	1x/semana	1 a 3x/mês	Nunca/quase nunca

03. Com que freqüência o(a) Sr(a) costuma comer *fast food* (pizza, esfirra, quibe, coxinha, hamburger, acarajé)?

Mais de 3x/dia	2 a 3x/dia	1x/dia	5 a 6x /semana	2 a 4x/semana	1x/semana	1 a 3x/mês	Nunca/quase nunca

04. No total, quantas refeições o(a) Sr(a) faz por dia, incluindo os lanches e excluindo cafezinho entre os intervalos?

|__|__| refeições

05. Com que freqüência o Sr(a) costuma comer VERDURAS e LEGUMES crus, cozidos ou refogados, sem incluir batatas, mandioca/aipim, inhame e cará?							
Mais de 3x/dia	**2 a 3x/dia**	**1x/dia**	**5 a 6x /semana**	**2 a 4x/semana**	**1x/semana**	**1 a 3x/mês**	**Nunca/quase nunca**
06. Com que freqüência o(a) Sr(a) costuma comer FRUTAS, sem incluir sucos de frutas?							
Mais de 3x/dia	**2 a 3x/dia**	**1x/dia**	**5 a 6x /semana**	**2 a 4x/semana**	**1x/semana**	**1 a 3x/mês**	**Nunca/quase nunca**

07. O(a) Sr(a) usa adoçante artificial?	
[ ] Não	
[ ] Sim ------→	08. Qual o tipo?
	[ ] Líquido (embalagem transparente)
	[ ] Líquido (embalagem opaca)
	[ ] Pó
	[ ] Stévia
	[ ] Forno e Fogão

09. Em sua casa que tipo de ÓLEO/GORDURA é usado no COZIMENTO/PREPARO de refeições? [Marque o óleo de uso mais freqüente].
[ ] óleo soja
[ ] óleo de milho/girassol/canola
[ ] azeite de oliva
[ ] óleo composto (azeite de oliva + óleo de soja)
[ ] azeite de dendê
[ ] margarina
[ ] manteiga
[ ] banha

[ ] não se usa óleo/gordura
[ ] não sei
10. Que tipo de ÓLEO/AZEITE o(a) Sr(a) costuma usar em saladas? [Marque o óleo de uso mais freqüente].
[ ] óleo soja
[ ] óleo de milho/girassol/canola
[ ] azeite de oliva
[ ] óleo composto (azeite de oliva + óleo de soja)
[ ] não se usa óleo/azeite
[ ] não sei
11. Quando o(a) Sr(a) come CARNE DE BOI/VACA, PORCO ou CARNEIRO, costuma tirar a gordura visível?
[ ] nunca/raramente
[ ] algumas vezes
[ ] sempre
12. Quando o(a) Sr(a) come CARNE DE FRANGO ou OUTRO TIPO DE AVE, costuma tirar a pele?
[ ] nunca/raramente

[ ] algumas vezes	
[ ] sempre	
13. **NOS ÚLTIMOS SEIS MESES** o(a) Sr(a) mudou seus hábitos alimentares ou está fazendo dieta por algum motivo? Se for o caso, escolha mais de uma resposta.	
[ ] Não	
[ ] Sim ------→	14. Qual foi o motivo?
	[ ] para perda de peso
	[ ] para redução de colesterol
	[ ] para redução de sal
	[ ] dieta vegetariana/redução de carnes
	[ ] para ganho de peso
	[ ] para diabetes
	[ ] por outro motivo. 15. Especifique:

Anexo II: Consumo de Álcool (CAL)

ID NUMERO:							

Código Formulário: CAL
Versão: 09/07/2009

ELSA BRA

Informações Administrativas:

0a. Data da entrevista: ☐☐/☐☐/☐☐☐ 0b. Nº Entrevistador(a): ☐☐☐

CONSUMO DE ÁLCOOL (CAL)

"Agora, gostaríamos de saber a respeito de alguns de seus hábitos de vida. As próximas perguntas se referem ao consumo de cerveja, chope, vinho, uísque, cachaça ou outros destilados, licores, batidas ou qualquer outro tipo de bebida alcoólica, seja consumida em refeições ou fora dela, em situações especiais ou apenas para relaxar"	
01. O(a) Sr(a) já consumiu bebidas alcoólicas?	
[ ] Sim	
[ ] Não [ ] NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	**(PULE PARA A QUESTÃO 01 DO BLOCO DIS)**
02. Atualmente o(a) Sr(a) consome bebidas alcoólicas?	
[ ] NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER	
[ ] Sim	
[ ] Não ----------→	03. Há quanto tempo o sr(a) parou de consumir bebidas alcoólicas? LEIA AS ALTERNATIVAS.
	[ ] Menos de 1 ano
	[ ] Entre 1 a 2 anos
	[ ] Há mais de 2 anos
	[ ] NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER
	04. O(a) sr(a) parou de consumir bebidas alcoólicas por motivos de saúde?
	[ ] Sim
	[ ] Não
	[ ] NÃO SABE/NÃO QUER RESPONDER

Anexo III: Aprovação ética

Fls. nº 95
Rubrica

CENTROS PARTICIPANTES DO ESTUDO

TÍTULO DO ESTUDO: "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Paulo Andrade Lotufo

PROTOCOLO Nº: 659/06
VERSÃO: 13/maio/2006
PATROCINADOR: FINEP – Financiadora de Estudos e Projetos

Informamos os Centros envolvidos no Estudo supra citado:

INSTITUIÇÃO	MUNICÍPIO	AMOSTRA
Universidade de São Paulo	São Paulo- SP	5.000
Universidade Estadual do Rio de Janeiro – Fundação Oswaldo Cruz	Rio de Janeiro- RJ	2.000
Universidade Federal de Minas Gerais	Belo Horizonte- MG	3.000
Universidade Federal do Espírito Santo	Vitória- ES	1.000
Universidade Federal do Rio Grande do Sul	Porto Alegre- RS	2.000
Universidade Federal da Bahia	Salvador- BH	2.000
TOTAL		**15.000**

São Paulo, 15 de maio de 2006.

Paulo Andrade Lotufo
Pesquisador Responsável
Hospital Universitário da Universidade de São Paulo

Fls. nº 96
Rubrica

TERMO DE EQUIVALÊNCIA DE DOCUMENTOS SUBMETIDOS AOS COMITÊS DE ÉTICA EM PESQUISA

TÍTULO DO ESTUDO: "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Paulo Andrade Lotufo

PROTOCOLO Nº: 659/06
VERSÃO: 13/maio/2006
PATROCINADOR: FINEP – Financiadora de Estudos e Projetos

Declaramos para os devidos fins que todos os documentos constantes para avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo possuem conteúdo equivalente aos submetidos aos demais CEPs das Instituições participantes do projeto supracitado.

DATA: 15 de maio de 2006.

ASSINATURA:

Paulo Andrade Lotufo
Pesquisador Responsável
Hospital Universitário da Universidade de São Paulo

Fls. nº 97
Rubrica

São Paulo, 15 de maio de 2006.

Projeto de Pesquisa: *"Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto"* – **Cadastro** 659/06
Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo

Trata-se de um estudo multicêntrico, tendo como agência de fomento a Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP). O ELSA é um estudo de coorte que investiga determinantes sociais e biológicos, bem como, doença deles decorrentes. Esse projeto contribuirá para o desenvolvimento de políticas públicas no controle de doenças em adultos como diabetes, doenças cardiovasculares e obesidade.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) está adequado e explica ao sujeito de pesquisa, com detalhes, a respeito da sua participação.

O projeto está em conformidade com as resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

Considero o estudo APROVADO.

Dra. Maria Teresa Zulini da Costa

Fls. nº 98
Rubrica

São Paulo, 15 de maio de 2006.

Dra. Maria Teresa Zulini da Costa
Coordenadora CEP-HU
Comitê de Ética em Pesquisa -HU

Referente: **Projeto de pesquisa cadastro 659/06 -** " Estudo longitudinal da saúde do adulto- ELSA ".

Pesquisador: Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo.

O estudo em análise tem como agência de fomento o FINEP, é multicêntrico nacional, de temática especial, de imensa importância pelo ineditismo. O TCLE é extenso mas claro, informando do risco mínimo na participação do projeto, e que não há vantagens nem prejuízo ao sujeito de pesquisa, sendo possível desistir da participação em qualquer momento do estudo, e facultando a permissão de utilização do sangue armazenado. Consideramos o projeto em conformidade com a resolução do Conselho Nacional de Saúde 196/96, e suas modificações subseqüentes, e, portanto APROVADO sem pendência.

Fls. nº 99
Rubrica

São Paulo, 19 de maio de 2006.

Il$^{mo(a)}$. S$^{r(a)}$.
Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo
Superintendência
Hospital Universitário da USP

Referente: Projeto de Pesquisa *"Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto - ELSA"* – Cadastro CEP-HU: 659/06 - Cadastro SISNEP: FR – 93920 – CAAE – 0016.1.198.000-06 - Área temática especial: Grupo I – I.1. Genética Humana

Prezado(a) Senhor(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em reunião realizada no dia 19 de maio de 2006, analisou o projeto de pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO**, bem como, seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Informamos que **o projeto estará sendo encaminhado para apreciação da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP- Brasília, devendo ser iniciado o estudo somente após a aprovação da referida Comissão.**

Lembramos que cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios semestrais (e relatório final ao término do trabalho), de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde 251/97, item V.1.c. **O primeiro relatório** está previsto para **19 de novembro de 2006.**

Atenciosamente,

Dra. Maria Teresa Zulini da Costa
Coordenadora
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitário – CEP: 05508-900 - São Paulo – SP
Tels.: (011) 3039-94557 ou 9479 Fax: (11) 3039-9452 E-mail: cep@hu.usp.br

Fls. nº 100
Rubrica

Armazenamento e utilização de amostras para uso futuro

Resolução 347 do Conselho Nacional de Saúde, 13 de janeiro de 2005

Projeto de Pesquisa *"Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"*
Registro CEP-HU/USP: 659/06 **Registro SISNEP**: FR 93920 CAAE 0016.1.198.000-06
Patrocinador: FINEP– Financiadora de Estudos e Projetos – Ministério da Ciência e Tecnologia

Declaramos para os devidos fins que o armazenamento de sangue para análises futuras (conforme previsto no protocolo) será voluntário e opcional, ou seja, o sujeito de pesquisa poderá participar do estudo, caso aceite, e não concordar que as amostras sejam armazenadas (opção possível conforme consta no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido).

As amostras serão apenas utilizadas para os testes que foram especificamente mencionados no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do Estudo em questão, após assinatura do sujeito de pesquisa. Caso torne relevante estudar novos marcadores genéticos não contemplados nos objetivos do projeto original, seu material biológico somente será utilizado mediante aprovação do novo projeto pelos Comitês de Ética em Pesquisa dos Centros de Investigação e da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), devendo ser o Termo de Consentimento Livre esclarecido revisado.

Todas as informações obtidas serão confidenciais, identificadas por um número e sem menção do nome do sujeito de pesquisa. Caso haja alguma informação de interesse para o paciente, este será devidamente contatado.

O material biológico coletado ficará armazenado no Laboratório Central do Hospital Universitário da USP (Avenida Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – 05508-900 – São Paulo – SP) e na Fundação Oswaldo Cruz (Av. Brasil, 4365 – Manguinhos – 21040-360 – Rio de Janeiro – RJ)

Atenciosamente,

São Paulo, 22 de maio de 2006.

Paulo Andrade Lotufo
Pesquisador Responsável
Hospital Universitário da USP

Fls. nº 101
Rubrica

CENTROS PARTICIPANTES

Projeto de Pesquisa "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"
Registro CEP-HU/USP: 659/06 - **Registro SISNEP**: FR 93920 CAAE 0016.1.198.000-06
Patrocinador: FINEP-Financiadora de Estudos e Projetos – Ministério da Ciência e Tecnologia.

Declaramos para os devidos fins que os centros participantes para o estudo supra mencionado são os listados a seguir:

CENTRO DE ESTUDO	PESQUISADOR RESPONSÁVEL	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
Fundação Oswaldo Cruz	Dora Chor	Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz
Universidade de São Paulo	Paulo Andrade Lotufo	Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da USP
Universidade Estadual do Rio de Janeiro	Eduardo Faerstein	Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual do Rio de Janeiro
Universidade Federal da Bahia	Estela Aquino	Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia
Universidade Federal de Minas Gerais	Sandhi Maria Baretto	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais
Universidade Federal do Espírito Santo	José Geraldo Mill	Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências de Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo
Universidade Federal do Rio Grande do Sul	Maria Inês Schmidt	Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Conforme Resolução CNS 346/05, informamos que o centro que se responsabilizará pela submissão e tramitação do estudo na CONEP/MS será o HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP – Pesquisador Responsável: Paulo Andrade Lotufo e COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP.

Atenciosamente,

São Paulo, 22 de maio de 2006.

Paulo Andrade Lotufo
Pesquisador Responsável
Hospital Universitário da USP

Fls. nº 102
Rubrica

Esclarecimento aos Comitês de Ética em Pesquisa

Resolução 346 do Conselho Nacional de Saúde, publicada em 13 de janeiro de 2005

Projeto de Pesquisa "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"
Registro CEP-HU/USP: 659/06 - **Registro SISNEP**: FR 93920 CAAE 0016.1.198.000-06
Patrocinador: FINEP-Financiadora de Estudos e Projetos – Ministério da Ciência e Tecnologia.

Conforme a Resolução 346 do Conselho Nacional de Saúde a qual estabelece nova regulamentação para tramitação de projetos de pesquisa multicêntricos no sistema Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), informamos que para o estudo acima mencionado, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo será responsável pela submissão do projeto para apreciação da CONEP.

Esclarecemos que a notificação de interrupção da pesquisa ou modificações relevantes continua sendo responsabilidade de cada pesquisador responsável submeter ao seu CEP e de cada CEP avaliar tais informações.

Atenciosamente,

São Paulo, 22 de maio de 2006.

Paulo Andrade Lotufo
Pesquisador Responsável
Hospital Universitário da USP

Hospital Universitário USP

Fls. nº 103
Rubrica

São Paulo, 19 de maio de 2006.

Il^mo S^r.

Dr. William Saad Hossne

DD. Coordenador da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP

Ministério da Saúde – Conselho Nacional de Saúde

Bloco G- Anexo Ala B – 1º andar – salas 128 a 127

70058-900 Brasília - DF

Prezado Senhor

Encaminhamos para apreciação de V. Sa. o Projeto de Pesquisa ***"Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"*** – **Registro CEP-HU/USP:** 659/06 – **Registro SISNEP:** FR-93920 - CAAE – 0016.1.198.000-06 - **Pesquisador Responsável:** Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo.

Trata-se de um projeto temático especial, multicêntrico nacional que também incluirá um estudo futuro sobre genética humana. Participarão os seguintes centros: Universidade de São Paulo, Universidade Estadual do Rio de Janeiro – FIOCRUZ; Universidade Federal de Minas Gerais, Universidade Federal do Espírito Santo; Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Universidade Federal da Bahia.

É um estudo de coorte de 15 mil funcionários não terceirizados de instituições públicas de ensino superior e pesquisa com idade igual ou superior a 35 anos.

O estudo tem como objetivos principais: **1)** estimar a incidência do diabetes e das doenças cardiovasculares e estudar sua história natural; **2)** investigar associações entre fatores biológicos, comportamentais, ambientais, ocupacionais, psicológicos e sociais relacionados a essas doenças e às complicações decorrentes, buscando compor modelo causal que contemple suas inter-relações; **3)** descrever a evolução temporal desses fatores e os determinantes dessa evolução; **4)** identificar modificadores de efeito das associações observadas e **5)** identificar diferenciais nos padrões de risco entre os centros participantes que possam expressar variações regionais relacionadas a essas doenças no país. Os objetivos secundários são: **1)** explorar hipóteses de inter-relações entre os fatores estudados e outras doenças relevantes, incluindo neoplasias malignas; **2)** desenvolver, testar e validar novos métodos e instrumentos para identificar e mensurar exposições e desfechos relevantes; **3)** formar pessoal qualificado em pesquisa epidemiológica de doenças

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – 05508-900 – São Paulo – SP
Tels.: (11) 3039-9457 ou 9479 Fax: (11) 3039-9452 E-mail: cep@hu.usp.br

crônicas; **4)** manter a vigilância da coorte e do banco de dados de modo a facilitar o estudo de novas hipóteses e fatores associados à incidência e ao prognóstico dessas doenças e **5)** estocar material biológico, para estudos futuros com diversos tipos de marcadores relacionados à inflamação, coagulação, disfunção endotelial, resistência à insulina, obesidade central, estresse e fatores de risco tradicionais, bem como prover a extração de DNA, para exames genéticos futuros.

O projeto investiga determinantes sociais e biológicos, bem como doenças deles decorrentes. Para tanto, na linha de base, são colhidas informações detalhadas sobre seu estado de saúde, incluindo exames clínicos. Então, a coorte será acompanhada anualmente para verificação de seu estado geral de saúde, a cada três anos, será chamada aos Centros de Investigação ELSA para completar avaliações mais detalhadas, incluindo exames clínicos.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido possui linguagem acessível e está adequado à Resolução 196/96 e às respectivas complementares.

O estudo terá suporte financeiro da FINEP – Financiadora de Estudos e Projetos – Ministério da Ciência e Tecnologia.

Atenciosamente,

Dra. Maria Teresa Zulini da Costa
Coordenadora
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP-HU/USP

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – 05508-900 – São Paulo – SP
Tels.: (11) 3039-9457 ou 9479 Fax: (11) 3039-9452 E-mail: cep@hu.usp.br

Fls. nº 105
Rubrica

TERMO DE COMPROMISSO DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL E DA INSTITUIÇÃO (RESOLUÇÃO 196/96)

Projeto de Pesquisa "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"
Registro CEP-HU/USP: 659/06 - **Registro SISNEP**: FR 93920 CAAE 0016.1.198.000-06
Patrocinador: FINEP-Financiadora de Estudos e Projetos – Ministério da Ciência e Tecnologia.

Eu, Paulo Andrade Lotufo, CRM 39863, Pesquisador Responsável pelo presente Projeto de Pesquisa a ser conduzido no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, localizado à Avenida Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária - CEP: 05508-900 - São Paulo – SP, comprometo-me a cumprir todos os Termos das Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/96) e Complementares do Conselho Nacional de Saúde, incluindo tornar público os resultados desta pesquisa quer sejam eles favoráveis ou não.

Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo
Pesquisador Responsável
Hospital Universitário da USP

Data: 24-05-2006

Prof. Dr. Marcelo Inaco Cirino
Diretor Médico
Hospital Universitário da USP

Data: 24-05-2006

Fls. nº 106
Rubrica

Wilma

De: "COMEP" <cep@hu.usp.br>
Para: "SISNEP" <sisnep@saude.gov.br>
Enviada em: sábado, 24 de junho de 2006 13:02
Assunto: Estudo Multicêntrico do HU/USP

Adilson, bom dia!

Gostaria de saber se você conseguiu colocar o Hospital Universitário da USP como primeiro centro do Projeto de Pesquisa "Estudo longitudinal de Saúde do Adulto - ELSA" - Pesquisador Responsável: Paulo Andrade Lotufo (Grupo II) - FR: 93920 - CAAE: 0016.1.198.000-06. Aguardo sua resposta.
Abraços,

Wilma Monteiro Frésca
Hospital Universitário da USP

Registro CONEP 13065

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

Fls. nº 107
Rubrica

CARTA Nº 976 CONEP/CNS/MS

Brasília, 04 de agosto de 2006.

Senhora Coordenadora,

Tendo a CONEP recebido desse CEP o projeto de pesquisa ***"Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"*** Registro CEP-HU/USP 659/06 - CAAE 0016.1.198.000-06, Registro Sipar MS: nº 25000.083729/2006-38, Registro CONEP nº 13065, verifica-se que:

Trata-se de protocolo a ser desenvolvido por consórcio vencedor da Chamada Pública DECIT/MS/FINEP/CNPq que foi constituído por sete instituições de ensino superior e pesquisa de seis estados, das regiões Nordeste (Universidade Federal da Bahia), Sudeste (FIOCRUZ/RJ, USP, UERJ, UFMG e UFES) e Sul (UFRS). Será um estudo de coorte de 15 mil funcionários de instituições públicas com idade igual ou superior a 35 anos. A coorte será acompanhada anualmente para verificação do estado geral e, a cada três anos, será chamada para avaliações mais detalhadas que incluem exames clínicos. Os sujeitos de pesquisa serão entrevistados por pessoas treinadas e certificadas e os exames serão realizados por profissionais de saúde. O estudo tem como objetivos principais: estimar a incidência do diabetes e das doenças cardiovasculares e estudar sua história natural; investigar associações entre fatores biológicos, comportamentais, ambientais, ocupacionais, psicológicos e sociais relacionados a essas doenças e complicações decorrentes, buscando compor modelo causal que contemple suas inter-relações; descrever a evolução temporal desses fatores e os determinantes dessa evolução; identificar modificadores de efeito das associações observadas; identificar diferenciais nos padrões de risco entre os centros participantes que possam expressar variações regionais relacionadas a essas doenças no país. Dentre os objetivos secundários *consta "estocar material biológico, para estudos futuros com diversos tipos de marcadores relacionados à inflamação, coagulação, disfunção endotelial, resistência à insulina, obesidade central, estresse e fatores de risco tradicionais, bem como prover a extração de DNA para exames genéticos futuros"*. De acordo com informação da pág. 11 do protocolo, item "coleta de sangue", as amostras de sangue serão estocadas para

Esplanada dos Ministérios, Bloco "G", Ministério da Saúde -Edifício Anexo, Ala "B" - 1º andar – Sala 145 – CEP 70058-900- Brasília / DF
Telefones : (61) 3315 2951/ 3226.6453 Fax : (61) 3226.6453 - *E-mail:* conep@saude.gov.br - *homepage* : http://conselho.saude.gov.br

Fls. nº 108
Rubrica

exames adicionais e formação de banco de DNA. Haverá um laboratório central que fará as "determinações básicas do estudo em amostras encaminhadas pelos centros de investigação", as "determinações simples" serão feitas nos próprios laboratórios. O banco de material biológico está em fase de planejamento com local e coordenador a serem definidos.

Diante do exposto, embora nos objetivos do estudo verifica-se que haverá também pesquisa genética, pelas informações do protocolo tal pesquisa não será realizada no momento, não estando descrito ainda (nem no protocolo, nem no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE) os procedimentos para tal. Portanto, nesse primeiro momento do estudo não se trata de projeto da área temática especial "genética humana" (Grupo I), conforme registrado na folha de rosto, mas sim, do grupo III. Nesse caso, a aprovação ética é delegada ao Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, devendo ser seguido o procedimento para projetos do grupo III, conforme o fluxograma disponível no site : http://conselho.saude.gov.br e no Manual Operacional para CEP. Não cabe, portanto, a referência a CONEP no 3º parágrafo da pág. 1 e no 6º parágrafo da pág.2 do TCLE. Evidenciamos, entretanto, que o armazenamento e utilização de materiais biológicos humanos no âmbito de projetos de pesquisa está regulamentado pela Resolução CNS 347/2005 e que o projeto em questão deve incluir as determinações dessa resolução. Quando for elaborado o protocolo para os estudos genéticos, deverá também ser cumprida a Resolução CNS 340/04 incluindo obtenção de TCLE específico. Em se tratando de pesquisa com funcionários de instituições públicas, cabe ressaltar o disposto no item IV.3 "b" da Res. 196/96.

Atenciosamente ,

CORINA BONTEMPO DUCA DE FREITAS
Secretária Executiva da
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

Á Sua Senhoria
Sr(a) Maria Teresa Zulini da Costa
Cordenadora Comitê de Ética em Pesquisas
Hospital Universitário da Universidade de São Paulo - HU/USP
Av. Profº Lineu Prestes, 2565
Cidade Universitária São Paulo
Cep:05.508-900

C/ cópia para os CEPs: UFBA, FIOCRUZ/RJ,UERJ, UFMG, UFES e UFRS

Anexo IV: Parecer Conep – Biobanco

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER CONEP-BIOBANCO Nº. 007/2013

Registro CONEP B-008 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este biobanco)

Processo nº 25000.207813/2012-00
Instituição responsável: Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
Instituições participantes:
Responsáveis institucionais: Isabela Judith Martins Benseñor (coordenadora) e Ligia Maria Giongo Fedeli (vice-coordenadora)
CEP de origem: Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo

Sumário geral do protocolo:

Tipo de material biológico:
Soro em jejum, soro após-sobrecarga, plasma-EDTA, plasma-citrato, plasma-heparina e urina.
Regimento interno:
Trata-se de Biobanco Institucional, mantido e gerenciado pelo Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, conforme descrito no "REGULAMENTO INTERNO SOBRE O ARMAZENAMENTO DE MATERIAIS BIOLOGICOS PARA FINALIDADE DE PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CNS 441 de 12 de maio de 2011".

O presente biobanco teve seu início decorrente do "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (Projeto ELSA)" - pesquisador responsável: Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo; registros CEP: 659/06 e SISNEP CAAE: 0016.1.198.000-06; patrocinadora: Financiadora de Estudo e Projetos (FINEP) – o que se deu antes da homologação da Resolução CNS 441/11 (diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores), que substituiu a Resolução CNS 347/05.

O objetivo do Biobanco de Materiais Biológicos do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (BMBHU/USP) é armazenar materiais biológicos, como tecidos, células, líquidos biológicos e material genético (DNA, RNA) de indivíduos (pacientes ou não), provenientes do Hospital Universitário da USP (HU/USP) ou de outras instituições envolvidas em projetos de pesquisa cooperativos; previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (CEP-HU/USP). As amostras armazenadas pelo BMBHU/USP somente poderão ser utilizadas em pesquisa aprovada pelo CEP-HU/USP e, quando for o caso, pela CONEP.

O ELSA-Brasil é um estudo de coorte prospectivo em que a primeira coleta de material biológico ocorreu de agosto de 2008 a dezembro de 2010. O estudo ainda pretende realizar mais duas coletas de sangue: uma em fase planejamento para o final de 2012 e outra provavelmente em 2016. Na primeira etapa foram recrutados 15.100

participantes funcionários de universidades e instituições de pesquisa lotados na UFRGS, FIOCRUZ-RJ, UFMG, UFES, UFBA e USP-SP.

O sigilo e o respeito à confidencialidade do paciente "doador" são mantidos através da utilização de mecanismos de codificação com acesso restrito.

Procedimentos operacionais padrão (POPs):

Foram apresentados procedimentos operacionais simplificados abordando coleta, processamento, armazenamento, distribuição e descarte do material biológico.

Documentos encaminhados para análise:

1) TERMO DE COMPROMISSO PARA USUÁRIOS DO BIOBANCO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 01 página; 2) Ofício CEP-HU/USP 011/2012, 02 páginas; 3) Carta de aprovação referente ao Projeto de Pesquisa "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto - ELSA" - Cadastro CEP-HU: 659/06, 01 página; 4) CARTA Nº 976 CONEP/CNS/MS, 02 páginas; 5) REGULAMENTO INTERNO SOBRE O ARMAZENAMENTO DE MATERIAIS BIOLOGICOS PARA FINALIDADE DE PESQUISA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CNS 441 de 12 de maio de 2011, 02 páginas; 6) Declaração de designação de responsabilidade pelo Biobanco, datada de 08/05/12, 01 página; 7) Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) do estudo "ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO", 04 páginas; 8) Declarações sobre os itens b, c, d do check-list de regulamentação de biobanco, 04 páginas; 9) DECLARAÇÃO DE COMPROMISSO DE ENVIO DE RELATÓRIO DE ATIVIDADES, datado de 23/02/2012, 01 página; 10) Declaração de submissão de protocolos envolvendo a utilização das amostras de biobanco ao sistema CEP-CONEP, datada de 07/05/2012, 01 página; e 11) Justificativa para o armazenamento de material biológico no biobanco do Hospital Universitário, 02 páginas.

Comentários/Considerações

1. Não foi apresentado modelo de TCLE para a coleta e armazenamento de amostras em Biobanco à luz das diretrizes contidas na Resolução CNS 441/11, com a justificativa deste documento estar vinculado à segunda parte do estudo ELSA, ainda não iniciado, conforme consta no item "Procedimentos onda 2" (página 17/21), onde se lê: "Ainda não há um protocolo definido dos procedimentos na onda 2 do estudo. Assim que for definido o novo protocolo ele será encaminhado à CONEP. Entretanto, não há previsão de mudanças significativas". Adicionalmente, na página 14/21, lê-se: "[...] não temos ainda a versão final do TCLE a ser utilizado na onda 2 já de acordo com a Resolução CNS 441, nem submetemos a extensão do projeto na CEP, o que será feito nos próximos meses. Sendo assim, não podemos anexar neste momento uma cópia do TCLE da onda 2, o que será feito assim que estiver pronto e aprovado na CEP". Cabe ressaltar que o Biobanco deve vincular-se à Instituição, por iniciativa desta, e não a um projeto/pesquisadores específicos, transcendendo, no caso em tela, a dependência do estudo ELSA. Solicita-se a apresentação de TCLE adequado às características próprias de um Biobanco, contemplando, em especial, as condições descritas no item 5 da Resolução CNS 441/11 e o exposto na Portaria 2201 de 2011 do Ministério da Saúde.
2. Em declaração assinada pelos Drs. Paulo Andrade Lotufo (presidente da Câmara de Pesquisa do Hospital Universitário da USP) e Maurício Seckler (coordenador do CEP do Hospital Universitário da USP), em 08 de maio de 2012, a Dra. Isabela Judith Martins Benseñor, docente da Faculdade de Medicina da USP é designada

como coordenadora do BMBHU/USP. Considerando que tanto o Dr. Lotufo quanto a Dra. Benseñor coordenam o estudo ELSA em São Paulo, questiona-se a possível existência de conflito de interesses entre os pesquisadores e a Instituição. Portanto, tal declaração não substitui a necessidade de apresentação de documento que comprove a referida designação e transferência de responsabilidades, assinado por outro profissional que responda como responsável institucional. Adicionalmente, não foi apresentado o Termo de Responsabilidade Institucional (TRI), por meio do qual a Instituição declara-se responsável, técnica e financeiramente, pela constituição e manutenção do Biobanco (Portaria do Ministério da Saúde Nº 2.201, de 14 de setembro de 2011 - Estabelece as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa). Solicita-se adequação.

3. Não foi apresentado acordo firmado entre as instituições participantes (UFRGS, FIOCRUZ-RJ, UFMG, UFES, UFBA), citadas no documento intitulado "Item c do check-list", tratando especificamente do Biobanco quanto aos aspectos relativos ao compartilhamento, formas de operacionalização e utilização do material biológico humano armazenado, inclusive a possibilidade de dissolução futura da parceria e a consequente partilha e destinação dos dados e materiais armazenados (Resolução CNS 441/2011, item 13). Solicita-se adequação.
4. No documento intitulado TERMO DE COMPROMISSO PARA USUÁRIOS DO BIOBANCO DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, a ser assinado pelo pesquisador que fará "uso do Biobanco locado no Hospital Universitário da USP", é mencionado que "Com esta passou a ser um biobanco; somaram-se outros dois receptáculos no mesmo local, não destinados ao Projeto ELSA". Solicita-se esclarecer a natureza dos "receptáculos" citados. Adicionalmente:
    a. O documento contem diversas informações acessórias não cabíveis a um Termo de compartilhamento de responsabilidades entre Instituição e Pesquisador Responsável (p. ex., regras de escolha dos coordenadores do Biobanco e informações que deverão constar no TCLE), que poderiam constar do Regimento do Biobanco. Solicita-se revisão integral da redação do documento.
    b. Faz-se referência a "na eventualidade de armazenamento em dois ou mais biobancos, todas as instituições envolvidas deverão ter ciência das outras participantes". Solicita-se esclarecer.
5. Em variados pontos do Protocolo de Desenvolvimento, menciona-se a doação de material biológico humano. No entanto, no ordenamento normativo vigente não cabe a previsão de <u>doação</u> de material biológico humano para fins de pesquisa, sendo passível apenas a previsão de autorização de coleta, guarda, armazenamento, utilização e descarte. Adicionalmente, o termo "doação" não se aplica, uma vez que o material biológico humano armazenado em Biobanco ou Biorrepositório é do sujeito da pesquisa (Resolução CNS 441/11, Art. 9). Frases como "A última possibilidade constante no TCLE franqueia a <u>doação irrestrita</u> para pesquisas futuras do material sem necessidade de novas autorizações ou contatos", "Só poderão ser armazenados no BMBHUJUSP os espécimes (tecidos, células, liquidas biológicos ou material genético) cuja autorização de coleta e, armazenamento esteja explicitamente formalizada no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinado pelo <u>doador do material</u> ou responsável legal [...]", "O acesso aos arquivos da pesquisa previamente aprovada pelo CEP-HU/USP que revelam a identidade dos <u>doadores de material biológico</u> é restrito e sua liberação em caso de necessidade só poderá ser autorizada pelos

coordenadores do BMBHU/USP", entre outras, são consideradas inapropriadas. Portanto, solicita-se a adequação dos documentos que compõem o Protocolo de Desenvolvimento do Biobanco quanto ao aspecto em destaque.

6. Não foi apresentado o Parecer Consubstanciado emitido pelo CEP quanto à regularização do Biobanco à luz das diretrizes da Resolução CNS 441/11, tão somente um Ofício esclarecendo que o protocolo de pesquisa referente ao estudo ELSA fora aprovado pelo CEP-HU/USP em maio de 2006. Solicita-se adequação (vide Carta Circular 009/2011CONEP/CNS, de 8 de agosto de 2011 - Nova lista de checagem incluindo requisitos da resolução CNS 441/2011).

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta-se por aguardar o atendimento às questões acima para emissão de seu parecer final.

Situação: **Protocolo com pendência.**

De acordo com a Resolução CNS 196/96, as pendências devem ser respondidas **exclusivamente pelo(s) responsável(eis)institucional no prazo de 60 dias**, a partir da data de envio do parecer pela CONEP. Após esse prazo o protocolo será arquivado. A resposta do(s)responsável (eis) institucional **deve ser avaliada pelo CEP com a emissão de parecer consubstanciado e, se aprovada, deve ser encaminhada à CONEP.** Solicita-se ainda que as respostas sejam enviadas de forma ordenada, conforme os itens das considerações deste parecer, **indicando-se também a localização das possíveis alterações no protocolo, inclusive no TCLE.**

Brasília, 18 de março de 2013.

Aníbal Gil Lopes
Coordenador Adjunto da CONEP/CNS/MS

Anexo V: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Fls. nº 33
Rubrica

ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO – ELSA

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Apresentação do estudo:
O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA, é uma pesquisa sobre doenças cardiovasculares, diabetes e outras doenças crônicas. É um estudo pioneiro no Brasil por ser realizado em várias cidades e por acompanhar as pessoas estudadas por um longo período de tempo. Graças a pesquisas semelhantes desenvolvidas em outros países, hoje se sabe, por exemplo, da importância de cuidados à pressão arterial e à dieta na prevenção dessas doenças. Entretanto, ainda há aspectos importantes sobre sua ocorrência, que necessitam de informações para orientar os programas de controle em nosso país.

Objetivos do estudo:
O ELSA investigará fatores que estejam relacionados a essas doenças em qualquer estágio de desenvolvimento, visando sugerir medidas mais eficazes de prevenção ou tratamento. Os fatores de interesse incluem aspectos de sua vida, família, trabalho, lazer e saúde em geral, inclusive fatores genéticos.

Instituições envolvidas no estudo:
O ELSA será realizado em seis Centros de Investigação, localizados em seis estados brasileiros. Envolverá ao todo sete instituições públicas de ensino e pesquisa,[1] com acompanhamento de 15.000 funcionários dessas instituições. É coordenado por um Comitê Diretivo, constituído por representantes de cada Centro de Investigação, do Ministério da Saúde e do Ministério da Ciência e Tecnologia. Em São Paulo, o estudo está sob a responsabilidade do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da USP, bem como, pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde (CONEP/MS).

Participação no estudo:
O(A) Sr.(a) é convidado a participar da pesquisa ELSA, a qual envolve o acompanhamento dos participantes por pelo menos sete anos, com a realização de entrevistas, de exames e medidas que ocorrerão no Centro de Investigação ELSA (UF), situado à Avenida Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – CEP: 05508-900 – São Paulo - SP.
Na primeira visita, sua permanência no Centro deverá ser de cerca de quatro horas, e caso necessário, será solicitada sua liberação para participar da pesquisa em horário de trabalho. Nessa oportunidade, o(a) Sr.(a) será entrevistado(a) sobre questões do seu dia a dia e condições de saúde, realizará algumas medidas (peso, altura e pressão arterial), exame de urina, ultra-som do abdome e do coração, eletrocardiograma, e fotografia do fundo de olho. Realizará também exames de sangue[2], para os quais serão feitas duas coletas: a primeira

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

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

1

FLS. N. ___
Rubrica ___

quando chegar, em jejum de 12 horas, e a segunda, após duas horas da ingestão de uma bebida doce padrão. O total de sangue coletado será de 80 ml (cerca de 5 colheres de sopa), uma quantidade muito menor do que uma doação de sangue, e que para uma pessoa adulta, não traz inconveniências. O procedimento para a coleta de sangue segue rotinas hospitalares e espera-se apenas um leve desconforto associado a picada da agulha. Algumas vezes pode haver sensação momentânea de desmaio ou pequena reação local, mas esses efeitos são passageiros e não oferecem riscos. A maioria dos exames que será realizada faz parte da rotina médica e nenhum deles emite radiação ou representa risco para gestantes.

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

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

Para poder acompanhar melhor sua situação de saúde, solicitaremos informações ao Hospital Universitário da USP e a outras instituições do sistema de saúde, sobre a ocorrência de hospitalizações, licenças médicas, eventos de saúde, aposentadoria, ou afastamento de qualquer natureza.

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

O Comitê Diretivo da Pesquisa ELSA é responsável pelas amostras juntamente com os coordenadores em cada local de estoque. As amostras serão utilizadas apenas quando forem aprovadas pelo Comitê Diretivo e estiverem de acordo com os procedimentos descritos no projeto originalmente aprovado pelas Comissões de Ética em Pesquisa dos Centros de Investigação e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS). Caso torne-se relevante estudar novos marcadores genéticos não contemplados nos objetivos do projeto original, seu material biológico somente será utilizado mediante aprovação do(s) novo(s) projeto(s) pelas Comissões de Ética em Pesquisa dos Centros de Investigação (CEPs) e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP/MS).

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

Fls. nº 36
Rubrica

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da USP pode ser contatado através do endereço e telefones: Av. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – São Paulo – SP – Tel.: (11) 3039-9457 – Fax: (11) 3039-9452 – E-mail: cep@hu.usp.br

Sua assinatura abaixo significa que o(a) Sr.(a) leu e compreendeu todas as informações e concorda em participar da pesquisa ELSA. Uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido lhe será entregue.

NOME: _____

RG: _____

DATA DE NASCIMENTO: _____/_____/_____.

ENDEREÇO: _____

_____

TELEFONE: _____

E-mail: _____

_____

Local_____

Data _____/_____/_____.

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

Assinatura_____

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

☐ **Sim** ☐ **Não**

Assinatura_____

Assinatura do/a entrevistador/a_____

(identificação referente à instituição a que pertence)

Fls. nº 35
Rubrica

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

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

Se houver perguntas ou necessidade de mais informações sobre o estudo ou qualquer intercorrência o(a) Sr.(a) poderá contatar o Dr. Paulo Andrade Lotufo no endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 2565 – Cidade Universitária – São Paulo – SP - telefone (11) 3039-9485.

Os pesquisadores participantes e responsáveis por essa pesquisa, no Centro de Investigação São Paulo são:

- Paulo Rossi Menezes
  Tel.: (11)3039-9280
- Isabela Judith Martins Benseñor
  Tel.: (11)3069-7690
- Marly Augusto Cardoso
  Tel.: (11)3066-7705
- Marina Baquerizo Martinez
  Tel.: (11)3039-9303
- Ilka Regina de Souza
  Tel.: (11)3039-9301
- Sandra Roberta Ferreira
  Tel.: (11)5576-4540
- José Eluf Neto
  Tel.: (11)3062-6822
- Laércio Joel Franco
  Tel.: (16)633-5839
- Ângela Pierin
  Tel.: (11)3066-7564
- Ana Campa
  Tel.: (11)3091-3637

Fls.nº 126
CEPHU/USP

Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto ELSA BRASIL

Hospital Universitário USP

ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO (ELSA Brasil)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Apresentação do estudo

Como já é do seu conhecimento, o Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) é uma pesquisa sobre doenças crônicas que acometem a população adulta, principalmente as doenças cardiovasculares e o diabetes. É um estudo pioneiro no Brasil por ser realizado em várias cidades e por acompanhar os adultos estudados por um longo período de tempo em várias etapas.

Objetivos do estudo

O ELSA-Brasil investiga fatores que podem levar ao desenvolvimento dessas doenças, ou ao seu agravamento, visando compreender melhor as formas de prevenção e tratamento. Os fatores investigados incluem aspectos relacionados aos hábitos de vida, família, trabalho, lazer e saúde em geral, inclusive fatores genéticos.

Instituições envolvidas no estudo

O ELSA Brasil é desenvolvido por seis Centros de Investigação pertencentes a instituições públicas de ensino e pesquisa, localizados em seis estados brasileiros (BA, ES, MG, RJ, RS e SP) [1] e coordenado por representantes de cada centro, do Ministério da Saúde e do Ministério da Ciência e Tecnologia, tendo sido aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa dos seis centros. Em São Paulo, o estudo está sob a responsabilidade da Universidade de São Paulo, sob a coordenação do Centro de Pesquisa Clínica do Hospital Universitário da USP.

Participação no estudo

Na primeira etapa (Onda 1), na qual contamos com sua participação e que ocorreu de 2008 a 2010, foram entrevistados e examinados 15105 funcionários das seis instituições envolvidas no estudo. O/a Sr/a é convidado/a participar desta etapa do ELSA-Brasil (Onda 2), com a segunda visita ao Centro de Investigação ELSA em São Paulo (CI-SP), que terá duração aproximada de três horas. De modo semelhante ao que ocorreu na Onda 1, o/a Sr/a fará entrevista, medidas (pressão arterial, peso, altura, circunferência de cintura e de quadril), exame de urina de 12 horas noturnas e eletrocardiograma e

Rubrica
Sujeito: _____
Pesquisador: _____

[1] Universidade Federal da Bahia (UFBA), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e Universidade de São Paulo (USP).

Fls.nº 127

Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto ELSA BRASIL

Hospital Universitário USP

alguns exames novos: medida de força muscular e bioimpedância (exame que mede a composição de gordura e massa magra do corpo). Os portadores de diabetes farão avaliação da sensibilidade nos pés (teste de monofilamento) e fotografia do fundo do olho. O/a Sr/a realizará também exames de sangue[1], para os quais serão feitas duas coletas: a primeira, quando chegar, em jejum, e a segunda, após duas horas de ingestão de bebida doce padrão, para realização de teste de tolerância à glicose (exceto os portadores de diabetes, que receberão um lanche em substituição e só farão uma coleta de sangue). O total de sangue coletado será aproximadamente de 40 ml e não traz inconveniências para adultos. Apenas um leve desconforto pode ocorrer associado à picada da agulha. Algumas vezes pode haver sensação momentânea de tontura, ou pequena reação local, mas esses efeitos são passageiros e não oferecem riscos. Esses exames já fazem parte da rotina médica e nenhum deles emite radiação. Os exames clínicos a serem realizados (medidas de peso, altura e circunferências, bioimpedância, força muscular, eletrocardiograma, monofilamento e fotografia do fundo do olho) não são invasivos e não oferecem riscos ou desconforto aos participantes.

A coleta de sangue segue rotinas padronizadas e será realizada, assim como os demais procedimentos, por pessoal capacitado e treinado para este fim, supervisionado por profissional qualificado, que poderá orientá-lo no caso de dúvida, ou ocorrência de alguma eventualidade.

Com a finalidade de controlar a qualidade dos procedimentos realizados, o Sr/a poderá ser solicitado/a pela equipe da pesquisa, por meio de *e-mail*, telefone ou correio, para repetir alguns exames, ou partes da entrevista. Poderá também ser convidado/a para realizar outros exames, ou entrevistas não previstos inicialmente, com o objetivo de fornecer informações adicionais para o estudo. Em qualquer das situações, sua participação não é obrigatória e o Sr/a não terá qualquer prejuízo se não aceitar repetir, ou realizar esses procedimentos.

Caso necessário, será fornecido atestado de comparecimento para apresentar à sua chefia.

Após a Onda 2, o/a Sr/a continuará a ser contatado por telefone, correspondência ou *e-mail*, para acompanhar as modificações no seu estado de saúde e para obtenção de informações adicionais. Estão previstas novas visitas ao CI-SP, pelo menos a cada três anos. Por isso, é muito importante informar mudanças de endereço e telefone à equipe ELSA.

Para poder monitorar melhor sua situação de saúde, é essencial obter dados clínicos em registros de saúde. Assim, necessitamos obter informações do Hospital Universitário da USP e de outras instituições do sistema de saúde, a respeito da ocorrência de hospitalizações, licenças médicas, eventos de saúde, aposentadoria ou afastamentos de qualquer natureza. Para isso, é imprescindível que nos autorize por escrito o acesso a essas informações ao final deste documento. Infelizmente, sem essa autorização, não será possível sua participação no estudo, pois dela depende a confirmação de eventos clínicos.

Rubrica

Sujeito: _____

Pesquisador: _____

[1] Hemograma completo, exames diagnósticos para diabetes (glicose e insulina em jejum e pós-ingestão e teste de tolerância à glicose), creatinina, uréia, ácido úrico, dosagem de lipídios, hormônios associados ao diabetes ou à doença cardiovascular e provas de atividade inflamatória.

Fls.nº 128
CEP/HU-USP

Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto ELSA BRASIL

Hospital Universitário USP

Armazenamento de material biológico

De modo semelhante ao ocorrido na Onda I, serão armazenadas novas amostras de sangue, urina e ácido desoxirribonucleico (DNA), sem identificação nominal, de forma segura e em locais especialmente preparados para a conservação das mesmas. Assim como em outras pesquisas no país e no mundo, essas amostras são fundamentais para futuras análises que possam ampliar o conhecimento sobre as doenças em estudo, contribuindo para o avanço da ciência.

Análises adicionais de caráter genético, ou não, que não foram incluídas nos objetivos definidos no protocolo original da pesquisa, somente serão realizadas mediante a apresentação de projetos de pesquisa específicos, aprovados pelo Comitê Diretivo do ELSA e pelos Comitês de Ética em Pesquisa de cada uma das instituições envolvidas, incluindo a assinatura de novos termos de consentimento livre esclarecido.

Seus direitos como participante

Sua participação no ELSA é inteiramente voluntária, sendo fundamental que ocorra em todas as etapas do estudo. Entretanto, se quiser, poderá deixar de responder a qualquer pergunta durante a entrevista, recusar-se a fazer qualquer exame, solicitar a substituição do/a entrevistador/a, ou deixar de participar da pesquisa a qualquer momento.

Não será feito qualquer pagamento pela sua participação e todos os procedimentos realizados serão inteiramente gratuitos. Os participantes poderão ter acesso aos resultados das análises realizadas no estudo por meio de publicações científicas e do website oficial da pesquisa (www.elsa.org.br).

Os exames e medidas realizados no estudo não têm por objetivo fazer o diagnóstico médico de qualquer doença. Entretanto, como eles podem contribuir para o/a senhor/a conhecer melhor sua saúde e indicar necessidade de confirmação com o seu médico, os resultados desses exames e medidas lhe serão entregues, e o/a Sr/a será orientado/a a procurar as unidades da rede SUS, ou outro serviço de saúde de sua preferência, quando eles indicarem alguma alteração em relação aos padrões considerados normais. Se durante sua permanência no CI São Paulo forem identificados problemas que requeiram atenção de urgência/emergência, o/a Sr/a será atendido/a no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo.

Reafirmamos que todas as informações obtidas do/a senhor/a serão confidenciais, identificadas por um número e sem menção ao seu nome. Elas serão utilizadas exclusivamente para fins de análise científica e serão guardadas com segurança. Somente terão acesso a essas informações os pesquisadores envolvidos no projeto. Com a finalidade exclusiva de controle de qualidade, sua entrevista será gravada e poderá ser verificada pela supervisão do projeto, sendo a gravação destruída posteriormente. Como nos demais aspectos do projeto, serão adotados procedimentos para garantir a confidencialidade das informações gravadas. Em nenhuma hipótese será permitido o acesso a informações individualizadas a qualquer pessoa, incluindo empregadores, superiores hierárquicos e seguradoras.

Rubrica
Sujeito: _____
Pesquisador: _____

3

Fls.nº 129
CEP/HU-USP

Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto ELSA BRASIL

Hospital Universitário USP

Uma cópia deste segundo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido lhe será entregue. Se houver perguntas ou necessidade de mais informações sobre o estudo, ou qualquer intercorrência, o/a senhor/a pode procurar o coordenador do ELSA Brasil em São Paulo, Professor Doutor Paulo Andrade Lotufo, Centro de Pesquisa Clínica, no endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 2565, Projeto ELSA, São Paulo; Telefone: (11) 3091-9300.

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo pode ser contatado pelo seguinte telefone: (11) 3091-9457.

Sua assinatura a seguir significa que o/a Sr/a leu e compreendeu todas as informações e concorda em continuar participando da pesquisa ELSA- Brasil.

Termo de Consentimento Livre Esclarecido

Nome do participante: _____
Documento de identidade: _____
Data de nascimento: ____/____/____
Endereço: _____
_____
_____ CEP _____
Telefones para contato: _____

Declaro que compreendi as informações apresentadas neste documento e dei meu consentimento para continuar participando do ELSA- Brasil.
Na condição de participante voluntário deste estudo, conduzido pela USP, autorizo seus pesquisadores a obter informações sobre a ocorrência de atendimentos e hospitalizações, licenças médicas, eventos de saúde, aposentadoria, ou afastamento de qualquer natureza em registros junto aos setores de recursos humanos da USP e outras instituições de saúde, públicas ou privadas, conforme indicar a situação específica.

Autorizo o/a representante do ELSA, devidamente credenciado/a, a ter acesso e realizar cópias (xerográfica, fotográfica ou em outras mídias) do meu prontuário com a finalidade exclusiva de utilização da informação nesta pesquisa. Autorizo também que sejam fornecidas cópias (em papel, CD, DVD ou qualquer outra mídia) de exames complementares (patologia clínica, imagem, etc.) realizados em decorrência de atendimentos em serviços de saúde.

Estou ciente de que as informações serão analisadas sem a identificação do meu nome, da equipe de saúde e do hospital ou estabelecimento de saúde.

Assinatura: _____

Rubrica
Sujeito: _____ 4
Pesquisador: _____

Fls.nº 130
CEP/HU-USP

Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto ELSA BRASIL

Hospital Universitário USP

Declaro concordar que as amostras de sangue e urina colhidas no início da pesquisa e nesta data sejam armazenadas para análises futuras sobre as doenças crônicas em estudo, não sendo necessário que eu seja consultado/a toda a vez em que forem utilizadas de acordo com os objetivos definidos no protocolo original da pesquisa.

Sim ☐ Não ☐

Assinatura: _____

Local: _____ Data ____/____/____

Nome do/a entrevistador/a _____ Código _____

Assinatura do/a entrevistador/a _____

Assinatura do Pesquisador _____

Rubrica

SUJEITO: _____

Pesquisador: _____

S

Anexo VI: Comprovante de submissão do primeiro manuscrito

NUTJ-D-18-00352
Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults. The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)
Ludmila Naud, MSc; Dirce Maria Lobo Marchioni; Isabela Judith Martins Benseñor; Paulo Andrade Lotufo
Nutrition Journal

Dear Mrs Naud,

Thank you for submitting your manuscript "Dietary fatty acids and lipoprotein cholesterol profile among apparently healthy adults. The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil)" to Nutrition Journal.

The submission id is: NUTJ-D-18-00352
Please refer to this number in any future correspondence.

During the review process, you can keep track of the status of your manuscript by accessing the following website:

https://nutj.editorialmanager.com/

If you have forgotten your username or password please use the "Send Login Details" link to get your login information. For security reasons, your password will be reset.

Best wishes,
Editorial Office
Nutrition Journal
https://nutritionj.biomedcentral.com/

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at https://www.springernature.com/production-privacy-policy or email dataprotection@springernature.com. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding the Editorial Manager database and the publishing process, please email our publication office, stating the journal name(s) and your email address(es):
PublicationOfficeSPI@springernature.com

In compliance with data protection regulations, please contact the publication office if you would like to have your personal information removed from the database.

Anexo VII: Comprovante de Submissão segundo manuscrito

Revista Eletrônica Saúde Mental, Álcool e Drogas - SMAD <portalderevistas@usp.br> 16:23 (Há 1 minuto)

para eu

Ludmila Macêdo Naud,

Agradecemos a submissão do trabalho "Perfil Lipídico e Consumo de Bebida Alcóolica: Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-BRASIL)" para a revista SMAD Revista Eletrônica Saúde Mental Álcool e Drogas (Edição em Português).
Acompanhe o progresso da sua submissão por meio da interface de administração do sistema, disponível em:

URL da submissão: https://www.revistas.usp.br/smad/authorDashboard/submission/153349
Login: ludmilanaud

Em caso de dúvidas, entre em contato via e-mail.

Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de compartilhar seu trabalho.

Revista Eletrônica Saúde Mental, Álcool e Drogas - SMAD