



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ANÁLISES CLÍNICAS PROFISSIONAL – MACPro**

SÉRGIO LOBATO FRANÇA

**SÍNDROME METABÓLICA E FATORES ASSOCIADOS EM POPULAÇÕES DA
AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA: UM ESTUDO TRANSVERSAL**

**BELÉM – PA
2015**

SERGIO LOBATO FRANÇA

**SÍNDROME METABÓLICA E FATORES ASSOCIADOS EM POPULAÇÕES DA
AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA: UM ESTUDO TRANSVERSAL**

Dissertação, em forma de artigo científico, apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas Profissional da Universidade Federal do Pará.

Orientador: Prof. Dr. José Ricardo dos Santos Vieira

BELÉM - PA
2015

SERGIO LOBATO FRANÇA

**SÍNDROME METABÓLICA E FATORES ASSOCIADOS EM POPULAÇÕES DA
AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA: UM ESTUDO TRANSVERSAL**

Dissertação, em forma de artigo científico, apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas Profissional da Universidade Federal do Pará.

Data da defesa: 28 de agosto de 2015.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Ricardo dos Santos Vieira
ICB – UFPA (Orientador)

Prof. Dr. Luiz Carlos Santana da Silva
ICB – UFPA (Titular)

Prof. Dr. Moisés Hamoy
ICB – UFPA (Titular)

Prof^a. Dr^a. Vanessa Jóia de Mello
ICB – UFPA (Titular)

Prof^a. Dr^a. Rita de Cássia Mousinho Ribeiro
ICB – UFPA (suplente)

SUMÁRIO

1. ARTIGO CIENTÍFICO	9
Título, Autores, Filiação e Resumo.....	9
INTRODUÇÃO.....	10
METODOLOGIA.....	11
Aspectos éticos.....	11
População estudada e delineamento da pesquisa.....	12
Coleta de dados.....	13
Diagnóstico da Síndrome metabólica.....	13
Avaliação antropométrica.....	15
Avaliação bioquímica.....	15
Fatores de riscos.....	16
Análises dos dados.....	16
RESULTADOS.....	17
Características gerais da população.....	17
Prevalência da síndrome metabólica e de seus componentes.....	18
Associação dos fatores de riscos para síndrome metabólica.....	20
DISCUSSÃO.....	22
CONCLUSÃO.....	26
AGRADECIMENTOS.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
2. APÊNDICES	36
Termo de consentimento livre esclarecido.....	37
Ficha-questionário.....	39
3. ANEXOS	41
Parecer ético.....	42
Normas da revista.....	43

Dedico este trabalho a minha família,
que com muito carinho mantiveram
apoio constante.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me concedeu a existência. Obrigado por iluminar meu caminho durante esta jornada, sem ti nada disto seria possível.

Ao Prof. Dr. Ricardo Vieira, pela orientação, confiança e respeito ao meu trabalho. Por compartilhar seus conhecimentos, e oferecer seus ensinamentos, que vão além da ciência.

A todos os colegas do Laboratório de Análises Clínicas pelo acolhimento, companheirismo, motivação na realização deste estudo.

A toda população das cidades de Anajás, Chaves, São Sebastião da Boa Vista e Portel, pelo consentimento na execução do projeto e receptividade durante as jornadas de nossa equipe em vossos lares.

“O homem não teria alcançado o possível se, repetidas vezes, não tivesse tentado o impossível”

- Max Weber -

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

CA – Circunferência abdominal

CT – Colesterol Total

DCNT - Doenças Crônicas Não Transmissíveis

DCV – Doenças Cardiovasculares

HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica

HDL-c – Colesterol de Lipoproteína de Alta Densidade

IC - Intervalo de Confiança

IMC – Índice de Massa Corporal

LDL-c - Colesterol de Lipoproteína de Baixa Densidade

OA - Obesidade abdominal

OR - Odds Ratio

PAD – Pressão Arterial Diastólica

PAS – Pressão Arterial Sistólica

SM – Síndrome Metabólica

SSBV - São Sebastião da Boa Vista

TG – Triglicerídeos

US - Estados Unidos

VLDL-c - Colesterol de Lipoproteína de Muita Baixa Densidade

1. ARTIGO CIENTÍFICO A SER SUBMETIDO COMO ARTIGO ORIGINAL À REVISTA PLoS ONE (ISSN 1932-6203 – QUALIS A1)

SÍNDROME METABÓLICA E FATORES ASSOCIADOS EM POPULAÇÕES DA AMAZÔNIA ORIENTAL BRASILEIRA: UM ESTUDO TRANSVERSAL

Sérgio Lobato França^{1¶}, Sandra de Souza Lima^{1¶}, José Ricardo Dos Santos Vieira^{1¶*}

¹ Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, Belém, Estrado do Pará, Brasil

[¶]Estes autores contribuíram igualmente para este trabalho

*jrvieira@ufpa.br

Resumo

Introdução: a síndrome metabólica (SM) desempenha papel fundamental na origem das doenças cardiovasculares. Estudos sobre a SM no Brasil ainda são recentes, e em regiões mais isoladas como na Amazônia, o seu comportamento epidemiológico ainda é desconhecido. O estudo objetivou estimar a prevalência da SM e fatores associados em adultos da Amazônia Brasileira. **Métodos:** realizou-se no período de 2012 a 2013 um estudo transversal de base populacional, com a participação de 787 adultos selecionados aleatoriamente da área urbana de quatro cidades do estado do Pará, Amazônia Oriental Brasileira. Os participantes foram submetidos a avaliação antropométrica, laboratorial e interrogados sobre o estilo de vida. A síndrome metabólica foi definida pelo critério clínico harmonizado - *Joint Interim Statement*, sendo utilizada a regressão logística múltipla para verificar o potencial de associação dos fatores de risco com a presença da SM. **Resultados:** A prevalência geral da SM foi de 34,1% (IC 95%= 30,8-37,4), aumentando linearmente com aumento do índice de massa corporal e idade. A partir da faixa etária de 40-49 anos a SM atingiu aproximadamente metade das mulheres (46,0%), enquanto que os homens só experimentaram prevalência similar na quinta década de vida (43,3%). O HDL-c baixo (64,4%) e a obesidade abdominal (58,9%) são mais elevadas nas mulheres ($p < 0,0001$), já para os homens, a pressão arterial elevada é significativamente superior ($p < 0,0009$). Foram mais propensos a ter SM quem estava na faixa etária de 40-59 anos (odds ratio [OR]= 3,35 [IC 95%= 2,30-4,90]); ou ≥ 60 anos (OR= 5,80 [3,63-9,27]); ou com sobrepeso (OR= 4,17 [2,77-6,29]); ou obeso (OR= 8,82 [5,56-13,98]). **Conclusão:** A população estudada experimenta elevado risco cardiometabólico, necessitando de esforços governamentais para o controle da SM e dos fatores de risco relacionados, especialmente da obesidade.

Palavras-chave: Prevalência, Síndrome X metabólica, Região Amazônica.

Financiamento: Este trabalho é parte integrante de um estudo multicêntrico, intitulado “Marcadores Epidemiológico em Saúde do Arquipélago no Marajó” que foi financiado pela Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas do Pará (Projeto nº 014/2012). Entretanto, os financiadores não desempenharam nenhum papel na concepção do estudo; coleta e análise dos dados; decisão de publicar ou preparar o manuscrito.

INTRODUÇÃO

A Síndrome metabólica (SM) está incluída no rol das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), sendo definida como um conjunto interconectado de distúrbios metabólicos que aumentam o risco para doenças cardiovasculares (DCV) e as chances de mortalidade precoce. Seus principais componentes são a resistência insulínica, pressão arterial elevada, obesidade central e dislipidemia (triglicédeos elevados e baixos níveis de colesterol de lipoproteína de alta densidade) [1-3], podendo evoluir para câncer, gota, doença hepática gordurosa não alcoólica, ovário policístico, síndrome da apnéia do sono, demência entre outras complicações clínicas [4]. Atualmente, as DCV são as principais causas de morte no mundo, com destaque para a doença isquêmica cardíaca e o acidente vascular encefálico, que levaram coletivamente a óbito 12,9 milhões de pessoas em 2010, o equivalente a uma de cada quatro mortes no mundo [5]. No Brasil milhares de hospitalizações acontecem anualmente em decorrência à doença arterial coronariana, só no ano de 2011 estimou-se um gasto por parte do Sistema Único de Saúde de cerca de R\$ 3,88 bilhões [6], denotando elevado impacto na economia do país.

A SM já constitui um dos mais importantes distúrbios complexos do início do século XXI, sendo considerada por alguns com uma epidemia mundial [2,7]. Atualmente a condição de SM ocorre em um terço dos norte-americanos [8], e já afeta cerca de 20% da população adulta na Europa [4]. Na América Latina estima-se que a SM acometa cerca de 24,9% da população [9]. No Brasil, um levantamento de destaque retrata uma prevalência para a população adulta semelhante à de países desenvolvidos, com média estimada de 29,6% [10].

Desde o reconhecimento da SM como entidade clínica sua etiologia e classificação têm sido alvo de inúmeras discussões e modificações por diversas entidades e pesquisadores, isto porque, ela é um conjunto de doenças de origem complexa que envolvem todas as facetas do risco de DCV, cujos mecanismos fisiopatológicos e interacionais ainda estão sendo melhor elucidados [3]. Atualmente já foram descritos vários critérios para classificar a SM por diversas organizações e entidades, dentre as quais se destacam a *World Health Organization (WHO)*, *National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III)*, *American College of Clinical Endocrinology (ACE)*, *European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR)* e *International Diabetes Federation (IDF)*. A partir de 2009, procurando harmonizar os diversos critérios, as entidades: *National Heart, Lung, and Blood Institute – US (NHLBI)*, *American Heart Association (AHA)*, *World Heart Federation (WHF)*, *International Atherosclerosis Society (IAS)*, *International Association for the Study of Obesity (IASO)* e *IDF* reuniram-se para definir um consenso sobre pontos de divergência para a melhor caracterização da SM globalmente [1].

Estudos sobre a SM no Brasil ainda são recentes, e na Amazônia seu comportamento epidemiológico ainda é desconhecido. Neste sentido, buscou-se descrever a prevalência da síndrome metabólica e fatores associados em quatro cidades do estado do Pará, na Amazônia Oriental Brasileira.

METODOLOGIA

Aspectos éticos

O projeto recebeu a aprovação pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará, Estado do Pará, Brasil (parecer nº 0003.0.324.000-10) (Anexo I), em conformidade com às Resoluções 347/2005 e 466/2012,

ambas do Conselho Nacional de Saúde Brasileiro. Obteve-se autorização por escrito dos participantes, por meio do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice I). A todos os participantes foram oferecidos o acesso aos seus resultados pessoais no estudo, e atendimento médico subsequente, quando necessário.

População estudada e delineamento da pesquisa

Realizou-se um estudo transversal de base populacional envolvendo participantes adultos (≥ 18 anos), sendo o trabalho parte integrante do projeto “Marcadores Epidemiológico em Saúde no Arquipélago do Marajó”, desenvolvido pela Universidade Federal do Pará no período de setembro de 2012 a abril de 2013, para avaliar o estado de saúde da população residente na mesorregião do Marajó, Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil (Fig 1). Efetivou-se a pesquisa na área urbana de quatro municípios estratégicos: São Sebastião da Boa Vista, Anajás, Portel e Chaves. A região do Marajó situa-se na macrorregião Nordeste do Estado do Pará, sendo composta por uma grande rede hidrográfica formada pelos Rios Amazonas e Pará, compreendendo uma área de 104.139,30 km², apresenta baixa densidade demográfica com predomínio da população rural sobre a urbana [11]. Seus municípios, figurando entre as cidades Brasileiras de mais baixo desenvolvimento humano [12], e incluem-se dentre as regiões mais pobres do País [13].

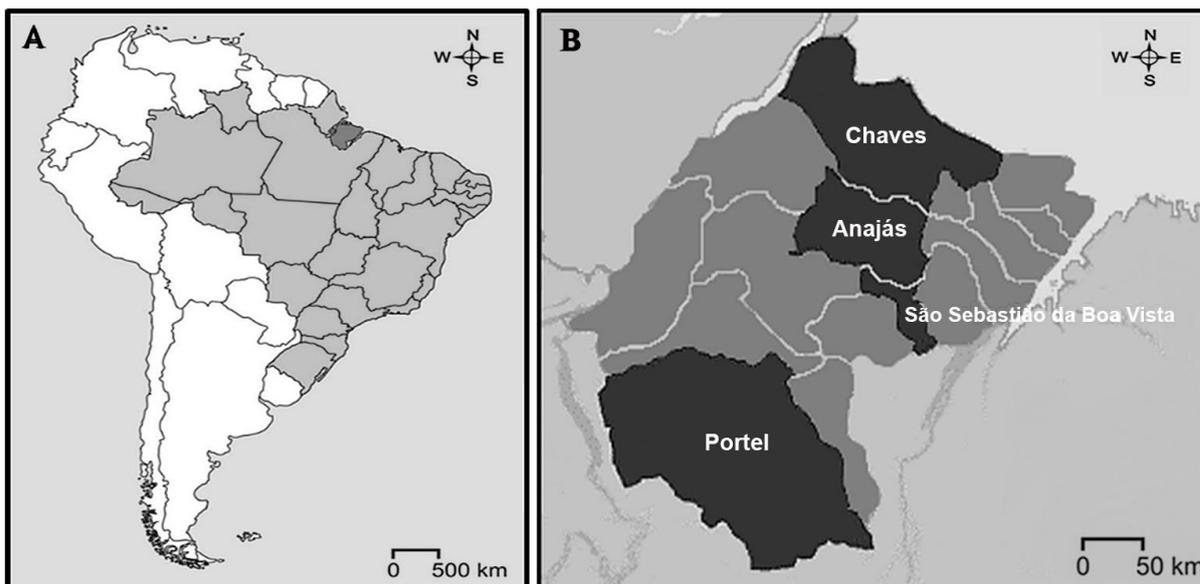


Fig 1. Localização da área de estudo. A: Mapa do Brasil com destaque para a mesorregião do Marajó, Estado do Pará, Amazônia Oriental; B: Messorregião do Marajó com destaque para os municípios estudados.

Coleta de dados

A amostragem foi aleatória, e estratificada proporcionalmente por municípios, conforme cada perfil populacional [14]. Foram excluídos: aqueles participantes que não atenderam o critério de idade (≤ 18 anos); mulheres grávidas; quem recusou-se a coletar amostra de sangue; quem não estava em jejum adequado; quem não realizou avaliação antropométrica; e quem apresentou exame bioquímico incompleto, alcançando ao final a eleição de 787 adultos (Fig 2).

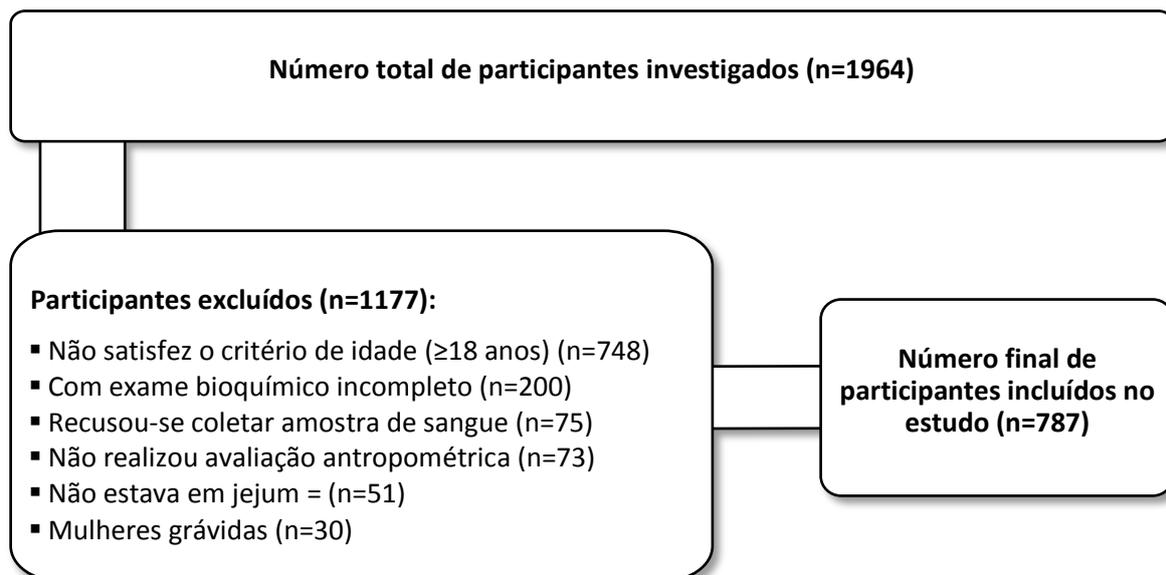


Fig 2. Processo de seleção dos participantes no estudo, Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil, 2012-2013.

Os participantes responderam a um questionário, que incluía dados sociodemográficos e fatores de risco cardiometabólicos (Apêndice II). Por conveniência, amostra foi organizada por gênero e grupos etários (18-29 anos, 30-39 anos, 40-49 anos, 50-59 anos, e ≥ 60 anos).

Diagnóstico da síndrome metabólica

Para diagnosticar a SM utilizou-se o critério definido pela declaração científica conjunta proposta pela NHLBI, AHA, WHF, IAS, IASO e IDF em 2009 [1], que definem como SM a presença de três ou mais fatores de risco entre cinco: 1) Circunferência abdominal ≥ 90 cm para homens e ≥ 80 cm para mulheres; 2) Triglicerídeos ≥ 150 mg/dL ou tratamento farmacológico para tal; 3) Colesterol HDL < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres ou tratamento farmacológico para tal; 4) Pressão Arterial $\geq 130/85$ mmHg ou tratamento farmacológico para tal; 5) Glicemia de jejum ≥ 100 mg/dL ou tratamento farmacológico para tal.

Avaliação antropométrica

As medidas antropométricas incluíram: a) pressão arterial, aferida manualmente usando esfigmomanômetro aneróide e estetoscópio (Prestige Medical, US). O participante foi devidamente posicionado com o aparelho no membro superior esquerdo, sentado após um intervalo mínimo de cinco minutos de repouso. Três medidas consecutivas foram obtidas, utilizado como resultado a média das duas últimas aferições [15]; b) circunferência abdominal, medida com fita métrica inelástica (Mabis, US) com precisão de 0,1 cm, aferida a partir do ponto médio entre as cristas ilíacas e as últimas costelas, com voluntário em posição ortostática no final do movimento respiratório da expiração [16]; c) peso corporal, medido com precisão de 0,1 kg, utilizando uma balança digital (EKS modelo 8897 REFLEX, France); d) estatura, medida por estadiômetro portátil (WCS, Brasil) com precisão de até 1 mm.

Para classificar o estado nutricional dos participantes, utilizou-se o índice de massa corporal (IMC), que considera: baixo peso ($<18,5 \text{ kg/m}^2$); eutrófico ($18,5\text{-}24,9 \text{ kg/m}^2$); sobrepeso ($25,0\text{-}29,9 \text{ kg/m}^2$); e obeso ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$), conforme critério definido pela Organização Mundial de Saúde [17].

Avaliação bioquímica

Após um jejum assegurado durante a noite de 12 horas, foram coletadas amostras sanguíneas dos participantes por punção venosa, afim de realizar a avaliação bioquímica sérica da glicose, colesterol total (CT), colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) e triglicerídeos. Tais dosagens foram realizados no laboratório de campo, com o uso do analisador Bio-plus 2000 (Bioplus Ltda, Brasil). O colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) e o colesterol de lipoproteína de muita baixa densidade (VLDL) foram calculados,

usando a equação de Friedewald [18], apenas para aqueles com níveis de triglicérides sérico abaixo de 400 mg/dL, e o colesterol não-HDL foi obtido pela diferença entre o CT e o HDL-c.

Fatores de riscos

Os fatores de riscos avaliados nos participantes estiveram relacionados ao hábito de fumar e de consumir bebida alcoólica. Para caracterizar o tabagismo, se considerou três grupos: não fumante, aqueles que nunca fumaram ou que fumaram por menos de 6 meses em toda vida; fumantes, aqueles que fumaram ≥ 1 cigarro/dia por pelo menos 6 meses continuamente; e ex-fumante, aqueles que fumaram regularmente por mais de 6 meses durante sua vida, mas não eram fumantes no momento da entrevista [19]. Para o hábito de consumir bebida alcoólica foi considerado: não etilista, aqueles que não consumirão qualquer tipo de bebida alcoólica ou que consumiram menos que uma dose por mês; etilista, aqueles que consumiram ≥ 1 dose de qualquer bebida alcoólica mensalmente [20].

Análises dos dados

O tamanho da amostra foi calculado no programa *BioEstat*, versão 5.3 [21], com base no cálculo do tamanho amostral para proporções, usando um intervalo de confiança de 90% e nível de significância de 0,1%. Os dados laboratoriais e do questionário epidemiológico foram codificados e digitados sobre uma estrutura previamente programada no *software Epi Info*, versão 6.04 [22]. As variáveis contínuas foram apresentadas em valores médios e de desvio padrão, as variáveis categóricas foram apresentadas como número absoluto; frequências e intervalo de confiança (IC) de 95%. Para avaliar as diferenças estatísticas entre as cidades, gêneros e componentes da SM, utilizou-se o teste do qui-quadrado, com auxílio do *BioEstat* 5.3, em um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Foi utilizada a regressão logística múltipla, para verificar o potencial de associação entre variáveis independentes com a

presença da SM (dependente), cujo critério definido para a inclusão das variáveis no modelo foi a associação com a variável dependente na análise bivariada ($p < 0,20$), em ordem da maior para a menor significância. A interpretação do modelo foi realizada em termos de p valor e *odds ratio* (OR) ajustado com IC, para tal análise, utilizou-se o *software Minitab Release 14* para *Windows* [23]. Os gráficos foram confeccionados com o auxílio do *software GraphPad Prism 5.0* (San Diego, Califórnia, US).

RESULTADOS

Características gerais da população

O estudo envolveu 787 adultos com idade média de 42,2 ($\pm 16,3$) anos, apresentando predomínio de indivíduos do gênero feminino (76,1%). As prevalências de consumo de álcool e tabagismo foram 25,4% e 12,2%, respectivamente. Em relação ao estado nutricional, houve predomínio de eutróficos (40,8%), o sobrepeso ocorreu em 35,1% da população e a obesidade em 22,0%. A média de IMC e CA foi de 26,8 ($\pm 5,2$) kg/m² e 84,9 ($\pm 12,2$) cm, respectivamente. A pressão arterial sistólica média foi de 129,1 ($\pm 23,8$) mmHg e a diastólica média foi de 81,2 ($\pm 16,5$) mmHg. Para a análise bioquímica, a média das dosagens séricas obtidas foram as seguintes: glicemia= 91,9 ($\pm 26,5$) mg/dL; triglicerídeos= 112,0 ($\pm 65,1$) mg/dL; colesterol total= 183,5 ($\pm 44,8$) mg/dL; HDL-c= 46,5 ($\pm 11,8$) mg/dL; LDL-c= 114,7 ($\pm 40,6$) mg/dL; VLDL-c= 22,4 ($\pm 13,0$) mg/dL e colesterol não-HDL= 137,1 ($\pm 45,7$) mg/dL. Na Tabela 1 são apresentadas as demais características descritivas dos participantes conforme cidade de origem.

Tabela 1. Características gerais da população. Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil, 2012-2013.

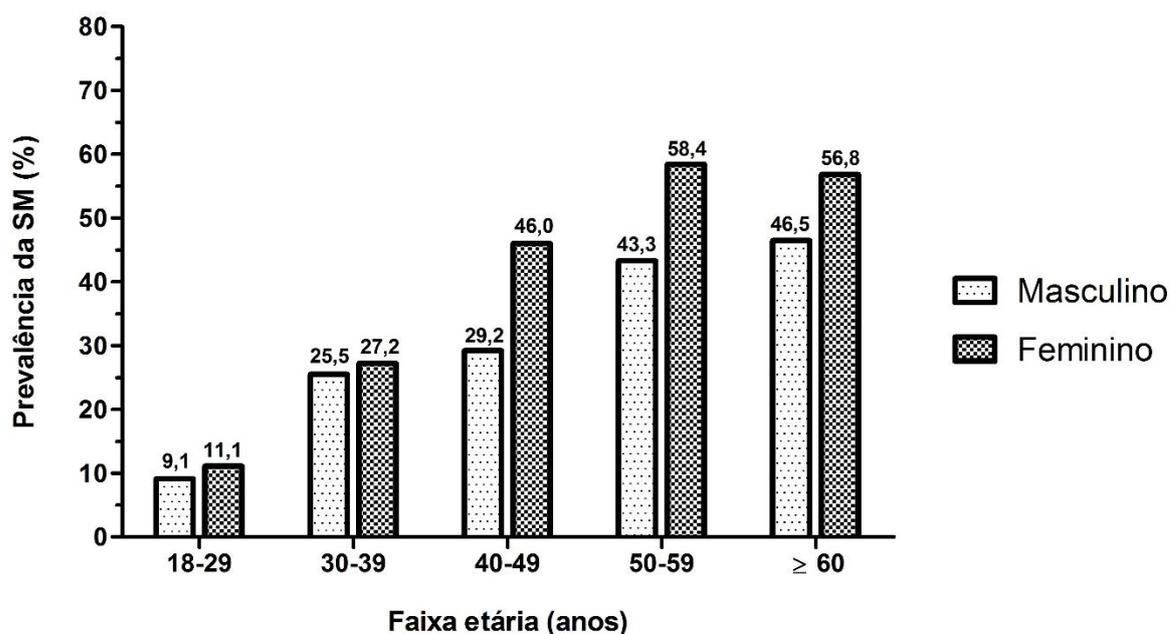
Variáveis	Anajás (n=175)	Chaves (n=208)	Portel (n=298)	SSBV (n=106)	Total (n=787)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Gênero					
Masculino	45 (25,7)	50 (24,0)	65 (21,8)	28 (26,4)	188 (23,9)
Feminino	130 (74,3)	158 (76,0)	233 (78,2)	78 (73,6)	599 (76,1)
Faixa etária					
18 – 29 anos	55 (31,4)	54 (26,0)	72 (24,2)	25 (23,6)	206 (26,2)
30 – 39 anos	36 (20,6)	44 (21,2)	84 (28,2)	30 (28,3)	194 (24,7)
40 – 49 anos	34 (19,4)	41 (19,7)	42 (14,1)	20 (18,9)	137 (17,4)
50 – 59 anos	25 (14,3)	36 (17,3)	47 (15,8)	11 (10,4)	119 (15,1)
≥ 60 anos	25 (14,3)	33 (15,9)	53 (17,8)	20 (18,9)	131 (16,6)
Tabagismo					
Nunca fumaram	98 (56,0)	132 (63,5)	162 (54,4)	63 (59,4)	455 (57,8)
Fumante	27 (15,4)	24 (11,5)	29 (9,7)	16 (15,1)	96 (12,2)
Ex-fumante	50 (28,6)	52 (25,0)	107 (35,9)	27 (25,5)	236 (30,0)
Etilismo					
Não etilista	78 (44,6)	83 (39,9)	134 (45,0)	62 (58,5)	357 (45,4)
Etilista	49 (28,0)	61 (29,3)	69 (23,2)	21 (19,8)	200 (25,4)
Ex-etilista	48 (27,4)	64 (30,8)	95 (31,9)	23 (21,7)	230 (29,2)
Estado nutricional					
Baixo peso (<18,5 kg/m ²)	3 (1,7)	3 (1,4)	10 (3,4)	1 (0,9)	17 (2,2)
Eutrófico (18,5-24,9 kg/m ²)	92 (52,6)	84 (40,4)	113 (37,9)	32 (30,2)	321 (40,8)
Com sobrepeso (25-29,9 kg/m ²)	51 (29,1)	68 (32,7)	114 (38,3)	43 (40,6)	276 (35,1)
Obeso (≥30 kg/m ²)	29 (16,6)	53 (25,5)	61 (20,5)	30 (28,3)	173 (22,0)
Características antropométricas					
IMC (Kg/m ²)	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
IMC (Kg/m ²)	25,8 ± 4,7	27,6 ± 5,7	26,4 ± 5,0	27,9 ± 5,4	26,8 ± 5,2
Circunferência abdominal (cm)	83,4 ± 11,7	84,7 ± 13,3	85,6 ± 12,3	85,9 ± 10,3	84,9 ± 12,2
PAS (mmHg)	127,7 ± 23,7	129,1 ± 22,8	128,6 ± 24,9	132,8 ± 22,6	129,1 ± 23,8
PAD (mmHg)	80,1 ± 15,7	81,3 ± 19,4	81,8 ± 16,1	81,2 ± 11,6	81,2 ± 16,5
Características bioquímicas					
Glicemia de jejum (mg/dL)	84,1 ± 13,5	93,7 ± 31,0	92,3 ± 24,1	99,9 ± 35,1	91,9 ± 26,5
Colesterol total (mg/dL)	184,4 ± 39,0	209,6 ± 46,1	166,5 ± 38,9	179,0 ± 42,8	183,5 ± 44,8
LDL-Colesterol (mg/dL)	118,1 ± 36,4	141,7 ± 42,1	97,3 ± 30,2	105,0 ± 40,8	114,7 ± 40,6
VLDL-Colesterol (mg/dL)	19,9 ± 10,8	26,4 ± 15,8	20,0 ± 11,0	25,5 ± 13,0	22,4 ± 13,0
HDL-Colesterol (mg/dL)	46,5 ± 10,7	41,5 ± 11,1	49,2 ± 12,1	48,5 ± 11,3	46,5 ± 11,8
Colesterol não-HDL (mg/dL)	137,9 ± 39,8	168,1 ± 47,6	117,3 ± 34,7	130,5 ± 45,5	137,1 ± 45,7
Triglicerídeos (mg/dL)	99,3 ± 54,0	131,8 ± 79,2	100,2 ± 54,9	126,9 ± 65,8	112,0 ± 65,1

SSBV= São Sebastião da Boa Vista; IMC= Índice de Massa Corpórea; PAS= Pressão Arterial Sistólica; PAD= Pressão Arterial Diastólica.

Prevalência da síndrome metabólica e de seus componentes

A prevalência geral da SM na população foi de 34,1% (IC95%= 30,8-37,4). Para as mulheres a prevalência foi de 35,4% (IC95%= 31,7-39,3) e para os homens foi de 29,8% (IC95%= 23,7-36,7), sem diferença significativa entre os gêneros ($p= 0,1846$).

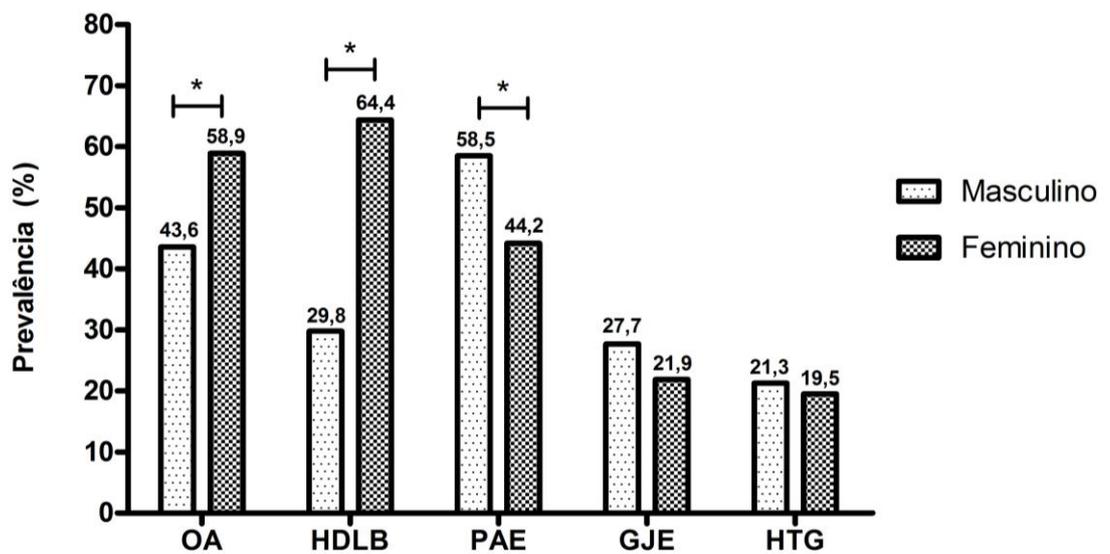
Entre as cidades, a distribuição da SM ocorreu de maneira heterogênea ($p < 0,0001$), SSBV foi o município com maior prevalência (46,2%), seguido de Chaves (44,2%), Portel (28,5%) e Anajás (24,0%). Pela estratificação da idade, notou-se que em ambos gêneros a frequência da SM se eleva conforme o avanço da idade. Para as mulheres a ocorrência da SM aumentou consideravelmente a partir de 40 anos ($> 46\%$), já entre os homens a SM foi mais expressiva a partir de 50 anos ($> 43\%$), conforme demonstra a Fig 3.



SM: Síndrome metabólica

Fig 3. Distribuição da prevalência da síndrome metabólica segundo a faixa etária e gênero. Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil, 2012-2013.

Os componentes mais comuns da SM foram HDL-c baixo (56,2%), obesidade abdominal (55,3%) e pressão arterial elevada (47,6%). A hipertrigliceridemia foi o componente menos frequente (19,9%). Observou-se que os componentes da SM variam conforme o gênero, onde para as mulheres o HDL-c baixo (64,4%) e a obesidade abdominal (58,9%) são significativamente mais elevadas em relação aos homens ($p < 0,0001$). Enquanto que a pressão arterial elevada para os homens (58,5%) foi significativamente superior ($p < 0,0009$) (Fig 4).



OA: Obesidade abdominal; HDLB: Baixos níveis de colesterol de lipoproteína de alta densidade; PAE: Pressão arterial elevada; GJE: Glicemia de jejum elevada; HTG: Hipertrigliceridemia
**p* valor < 0,05 (teste do qui-quadrado)

Fig 4. Distribuição da prevalência dos componentes da síndrome metabólica segundo o gênero. Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil, 2012-2013.

Associação dos fatores de riscos para síndrome metabólica

Os fatores de risco que se correlacionaram com a SM pela análise bivariada foram: indivíduos de 40–59 anos (OR= 4,14, IC 95%= 2,91-5,88, *p* valor <0,0001); ≥ 60 anos (OR= 5,06, IC 95%= 3,30-7,74, *p* valor <0,0001); ex-fumantes (OR= 1,71, IC 95%= 1,23-2,37, *p* valor=0,001); com sobrepeso (OR= 4,83, IC 95%= 3,28-7,13, *p* valor <0,0001); e obesos (OR= 8,48, IC 95%= 5,51-13,05, *p* valor <0,0001) (Tabela 2).

Tabela 2. Análise bivariada dos fatores de riscos em relação a presença da síndrome metabólica. Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil, 2012-2013.

Variáveis	Total (n= 787)	Presença da SM n (%)	Odds ratio (IC 95%)	p valor
Gênero				
Masculino	188	56 (29,8)	1,0	
Feminino	599	212 (35,4)	0,77 (0,54 -1,10)	0,158
Faixa etária				
18 – 39 anos	400	74 (18,5)	1,0	
40 – 59 anos	256	124 (48,4)	4,14 (2,91-5,88)	<0,0001
≥ 60 anos	131	70 (53,4)	5,06 (3,30-7,74)	<0,0001
Tabagismo				
Nunca fumaram	455	137 (30,1)	1,0	
Fumante	96	31 (32,3)	1,11 (0,69-1,78)	0,673
Ex-fumante	236	100 (42,4)	1,71 (1,23-2,37)	0,001
Etilismo				
Não etilista	357	129 (36,1)	1,0	
Etilista	200	61 (30,5)	0,78 (0,54-1,12)	0,179
Ex-etilista	230	78 (33,9)	0,91 (0,64-1,28)	0,582
Estado nutricional*				
Eutrófico (18,5-24,9 kg/m ²)	321	45 (14,1)	1,0	
Com sobrepeso (25-29,9 kg/m ²)	276	121 (43,8)	4,83 (3,28-7,13)	<0,0001
Obeso (≥ 30 kg/m ²)	173	100 (57,8)	8,48 (5,51-13,05)	<0,0001

SM= Síndrome metabólica; IC 95%= intervalo de confiança de 95%.

*A diferença no quantitativo é devido a exclusão dos indivíduos desnutridos.

No modelo final da regressão multivariada, após ajuste com todas as outras variáveis, somente indivíduos de meia idades (40-59 anos), idosos (≥ 60 anos), com sobrepeso e obesos mantiveram a significância estatística. Demonstrando que a obesidade geral, foi o fator de risco mais relacionado com a SM, predizendo um risco aproximado para ocorrência de SM de nove vezes (OR= 8,82, IC 95%= 5,56-13,98, p valor= 0,0001) (Tabela 3).

Tabela 3. Modelo de regressão logística dos fatores de riscos associados à síndrome metabólica. Estado do Pará, Amazônia Oriental, Brasil, 2012-2013.

Variáveis	Odds ratio ajustado	(IC 95%)	p valor
Idade: 40 - 59 anos	3,35	2,30 - 4,90	<0,0001
Idade: ≥ 60 anos	5,80	3,63 - 9,27	<0,0001
Com sobrepeso (IMC= 25-29,9)	4,17	2,77 - 6,29	<0,0001
Obesos (IMC ≥ 30)	8,82	5,56 - 13,98	<0,0001

IC 95%= intervalo de confiança de 95%; IMC= Índice de Massa Corpórea.

DISCUSSÃO

A prevalência geral da SM observada em nossos resultados (34,1%), foi consideravelmente superior a frequência descrita na população latino-americana [9,24], bem como é maior que a prevalência estimada para a população brasileira [10], superando até mesmos os grandes centros urbanos do País, como São Paulo (22.7%) [25] e Brasília (32.0%) [26], que utilizaram o mesmo critério de diagnóstico. É importante notar que embora não se tenha presenciado diferenças significativas na prevalência da SM entre os gêneros, observou-se que as mulheres, mais precocemente são acometidas por esta síndrome do que os homens, sobretudo a partir da faixa etária entre 40-49 anos, devido ser evidenciado que praticamente metade das mulheres foram afetadas (46%), já os homens só alcançaram expressividade similar a partir da quinta década de vida (> 43%). Este acontecimento diferiu de outros trabalhos [10,25], que só demonstraram alta prevalência de SM em indivíduos com mais de 50 anos de idade. Nesse sentido, é necessário que se estude melhor os diversos aspectos que implicam nesta propensão precoce do gênero feminino à SM, visando compreender, por exemplo, a idade média do estado menopausal, por já se ter indícios de menopausa precoce em outras cidades da Amazônia [27], e quando tal fenômeno ocorre, é responsável por desencadear mudanças negativas na homeostase cardiometabólica da mulher, o que favorecer à obesidade, dislipidemia, entre outros fatores de risco para SM, vista a perda da proteção cardiovascular propiciada pelos hormônios ovarianos, anterior a menopausa [28].

Houve diferença significativa entre os municípios avaliados ($p < 0,0001$), onde as cidades de SSBV e Chaves, obtiveram maior frequência da SM em suas populações com 46,2% e 44,2%, respectivamente. Esta frequência pode ser explicado pelo consoante aumento de obesos nesses municípios, o que implicou em maior risco para o desencadeamento da SM [29-32].

Os componentes mais comuns da SM descrito no trabalho (HDL-c baixo, obesidade abdominal e pressão arterial elevada), corroboraram com o descrito em outros estudos [9,10,33,34]. Observou-se que os componentes da SM variam conforme o gênero, sendo o HDL-c baixo o componente mais frequente nas mulheres, pois elas apresentam significativamente duas vezes mais alteração neste componente quando comparado aos homens (64,4% versus 29,8%). Há evidências de que baixos níveis de HDL-c na população feminina possam ser um achado comum na população Brasileira [10, 34] e em populações da América Latina [9]. Entretanto, o HDL-c baixo é um fator de risco independente para SM, pois quando seus níveis são adequados ele é capaz de remover o colesterol celular, além de desempenhar importante papel antioxidante e antitrombótico, que melhoram a função endotelial e inibe a aterosclerose [35-38].

Para os homens a pressão arterial elevada foi o componente mais importante, devido afetar metade da população masculina e ser estatisticamente superior em relação as mulheres (58,5% versus 44,2%). Essa disparidade observada entre os sexos, foi demonstrada em outros trabalhos regionais [39-41].

A HAS se caracteriza por alta prevalência e baixas taxas de controle, sendo um importante fator de risco para mortalidade por DCV. Na população do Brasil, se estima que entorno de 30% dos adultos sejam hipertensos [15], em nosso estudo apesar do valor de corte abranger um estágio limítrofe para hipertensão arterial ($\geq 130/85$ mmHg), a elevada prevalência neste trabalho do aumento pressórico para os homens é um dado alarmante. Atualmente a população de afrodescendentes no estado do Pará corresponde a 77,7% [42], sendo que no Marajó, a mestiçagem entre brancos pobres, negros e índios, é um processo historicamente natural [43]. Desta maneira o viés etnogenético desta população, pode ter favorecido à prevalência encontrada nesses locais, pois a hereditariedade desempenha papel

fundamental na gênese da hipertensão, sobretudo na população afrodescendentes, onde a HAS é duas vezes mais frequente [15].

Quando os fatores de risco foram ajustados com todas as outras variáveis, identificou-se que os indivíduos de meia idade; idosos; com sobrepeso e obeso, foram significativamente mais propensos ao acometimento da SM, pois indivíduo com sobrepeso se expôs a um risco de 4 vezes em desenvolver a SM, já para o indivíduo obeso este risco foi dobrado (OR: 8,82), em consonância, tal proporcionalidade foi observada para idade, onde os indivíduos a partir de 60 anos de idade obtiveram risco aproximadamente dobrado (OR: 5,8) para SM em relação ao grupo de 40-59 anos (OR: 3,3). Ratificado junto a outros trabalhos, que a idade e a obesidade, são os preditores mais significativos da SM [9,10,25,44]. O aumento da adiposidade, independentemente da idade, aumenta o risco de SM, por agregar um risco elevado no surgimento de inúmeras doenças crônicas, como DM2, HAS, esteatose hepática, dislipidemia, câncer e DCV, entre outras [29, 45-47]. Os achados de alta prevalência da obesidade em nossa amostra, são consistentes com o acelerado avanço da obesidade que perpassa o país, isto porque, em uma mapeamento mundial da obesidade o Brasil teve destaque entre os países que experimentaram maior aumento no número absoluto de pessoas com sobrepeso e obesidade entre 1980 e 2008, ficando atrás apenas da China e dos Estados Unidos [48], e atualmente cerca de 18% da população brasileira adulta é obesa, e metade está com sobepeso (52,5%) [49].

O recente crescimento geométrico da SM nos países em desenvolvimento tem sido atribuído, em maior parte, ao aumento da industrialização, por favorecer o aumento da importação de tecnologia e adaptações culturais, que repercutem negativamente em modificações dos hábitos alimentares e em maior tendência ao sedentarismo na população. [50-52]. A alta prevalência da SM encontrada nas cidades estudadas são indícios dessa

transição, sobretudo em relação aos hábitos alimentares, pois a crescente urbanização, promove a maior disponibilidade de alimento industrializado, que desperta o interesse pela facilidade e diversidade, ganhando espaço no cotidiano dessas populações. Um exemplo é o frango congelado, proveniente do Sul e Sudeste do País, que chegam às comunidades transportados por barcos, e substituem a alimentação tradicional a base de peixes e farinha de mandioca [53,54]. O mesmo acontece com o refrigerante, que também pelo baixo preço torna-se, até mesmo mais acessíveis que alimentos locais com o açaí, bebida tradicional destes povos, que apresenta formidável aporte nutricional, principalmente por desempenhar importantes efeitos anti-inflamatório com benéficos no perfil imunológico; na dislipidemia; no diabetes tipo 2; na SM; no câncer e no envelhecimento [55,56]. Esta perspectiva de progresso, que indiretamente estimula um estilo de vida cada vez mais ocidentalizado, descaracteriza, por conseguinte, as disposições socioculturais locais que traziam a segurança alimentar para estes povos da Amazônia, e provoca um aumento da densidade energética nas refeições, capaz de comprometer a autorregulação do balanço metabólico, aumentando assim, o risco de obesidade e SM nesta população [57].

É importante ressaltar que a SM tem sido relacionada de forma independente com o baixo nível socioeconômico e baixos níveis de educação [58-60]. Nesse sentido, as cidades estudadas apresentam fator agravante, por situarem-se em umas das regiões mais pobres do Brasil, apresentando grande carência por obras de infraestrutura; necessidade de maior escolaridade; péssimas condições de moradia e pouca presença do Estado [13]. Fatores estes, que podem concorrer para intensificação da SM nesta região, haja vista que indivíduos que possuem estabilidade financeira e são mais esclarecidos, estão menos propensos a possuir doenças crônicas não transmissíveis, pois têm um melhor acesso a informação, a alimentos saudáveis e assistência em saúde de melhor nível [33,60].

Neste estudo, o número menor de indivíduos do gênero masculino em relação ao feminino, pode ter comprometido a análise comparativa entre os gêneros. Entretanto, a baixa procura por serviços de saúde tem sido relatada como um aspecto comum ao gênero masculino, onde o imaginário social coloca o homem como invulnerável e contribui para que ele procure menos os serviços de saúde [61]. Deve-se registrar, que atualmente inexistem pontos de corte da CA para a população brasileira, e quando se utiliza o padrão geral para a população da América do Sul, que é recomendado [1], impõe-se um valor que pode não refletir o fenótipo mais adequado da população Brasileira, tendo em vista que alguns estudos já demonstram um padrão distinto [62,63]. O desenho transversal do estudo, naturalmente apresenta baixa capacidade de demonstrar a causalidade comparados com estudos longitudinais, podendo em alguns aspectos constituir um entrave. Apesar dessas limitações, nosso trabalho é importante por descrever ineditamente a SM e fatores de risco cardiovascular em cidades da Amazônia Brasileira, sendo os dados deste estudo de grande relevância para melhor compreensão epidemiológica da SM no Brasil e no mundo.

CONCLUSÃO

A prevalência da SM nestas cidades da Amazônia está acima do observado para outras regiões Brasileiras, sendo que sua frequência aumentou linearmente com aumento do índice de massa corporal e idade. A fim de reduzir o risco de morbimortalidade por DCV, a institucionalização da prevenção e tratamento da SM deve ser uma prioridade pelos órgãos de saúde pública locais. Assim como o contínuo estudo, pois os fatores que desencadeiam a condição de SM, são de origem complexas, sendo para tais populações a composição etnogenética e as condições socioeconômicas, pontos importantes a serem considerados.

AGRADECIMENTOS

A Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas do Pará (FAPESPA) pelo apoio financeiro (Projeto nº 014/2012); a população dos Municípios de Anajás, Chaves, Portel e São Sebastião da Boa Vista, pelo consentimento e apreço na realização do projeto; a equipe integrante do projeto “Marcadores Epidemiológico em Saúde no Arquipélago do Marajó”; assim como os amigos do Laboratório de Análises Clínicas – ICB/UFPA, por terem sido peças-chave na busca de compreender os marcadores epidemiológicos, ora desconhecidos, de uma população singular que se estabeleceu em meio às ricas ilhas do nosso desmedido Pará.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman, JI, Donato KA, et al. Harmonizing the Metabolic Syndrome: A joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009; 120:1640–1645. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644
2. Kassi E, Pervanidou P, kaltsas G, Chrousos G. Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Medicine*. 2011; 9:1-13. doi:10.1186/1741-7015-9-48
3. Papakonstantinou E, Lambadiaria V, Dimitriadisa G, Zampelas A. Metabolic Syndrome and Cardiometabolic Risk Factors. *Current Vascular Pharmacology*. 2013; 11 (6): 858-879. doi: 10.2174/157016111113116660176
4. Beck-Nielsen H. *The Metabolic Syndrome: Pharmacology and Clinical Aspects*. Wien: Springer, 2013.
5. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2012; 380:2095-2128. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.
6. Teich V, Araujo DV. Estimated cost of acute coronary syndrome in Brazil. *Ver Bras Cardiol*. 2011; 24: 85–94.
7. Milici NA. Short history of the metabolic syndrome definitions. *Proc. Rom. Acad.*, 2010; 1:13–20.
8. Aguilar M, Bhuket T, Torres S, Liu B, Wong RJ. Prevalence of the Metabolic Syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA*. 2015; 313(19):1973-1974. doi:10.1001/jama.2015.4260

9. Márquez-Sandoval F, Macedo-Ojeda G, Viramontes-Horner D, Fernández Ballart JD, Salas Salvadó J, Vizmanos B: The prevalence of metabolic syndrome in Latin America: a systematic review. *Public Health Nutr.* 2011; 14(10):1702–1713. doi: 10.1017/S1368980010003320
10. Vidigal FC, Bressan J, Babio N, Salas-Salvadó J. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. *BMC Public Health.* 2013; 13:1198. doi:10.1186/1471-2458-13-1198
11. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (BR). Projeto Levantamento e Classificação do Uso da Terra: uso da Terra no Estado do Pará. Rio de Janeiro: IBGE, 2013. Disponível em: ftp://geoftp.ibge.gov.br/documentos/recursos_naturais/manuais_tecnicos/usoterra_pa.pdf
12. Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento (BR). Atlas Brasil 2013: Rankings e recortes principais para avaliação do IDHM. Disponível em: <http://www.pnud.org.br/arquivos/ranking-idhm-2010.pdf>
13. Governo do Estado do Pará (BR). Indicadores de Qualidade Ambiental dos Municípios da Região de Integração Marajó, Belém: IDESP. 2012; 43.
14. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (BR). Censo Demográfico 2010 - Informações sobre os municípios brasileiros. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br>
15. Sociedade Brasileira de Cardiologia (BR). VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 95(1):1-51.
16. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome - a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; 23:469–480.

17. World Health Organization. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Geneva; 1998.
18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18:499–502.
19. Zhao Y, Yan H, Yang R, Li Q, Dang S, Wang Y. Prevalence and Determinants of Metabolic Syndrome among Adults in a Rural Area of Northwest China. *PLoS ONE.* 2014; 9(3):e91578. doi:10.1371/journal.pone.0091578
20. Freiberg MS, Cabral HJ, Heeren TC, Vasan RS, Curtis ER. Alcohol consumption and the prevalence of the metabolic syndrome in the US: a cross-sectional analysis of data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care.* 2004; 27:2954–2959.
21. Ayres M, Ayres JRM, Ayres DL, Santos AS. *Bioestat 5.0 - Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas.* Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2007.
22. Dean AG, Dean JA, Colmbier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, et al. *Epi Info, version 6: a word processing, database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers.* Atlanta, Georgia, USA: Center for Disease Control and Prevention; 1996.
23. MINITAB statistical software, Release 14 for Windows. [Computer software]. State College, Pennsylvania: Minitab; 2003.
24. Escobedo J, Schargrotsky H, Champagne B, Silva H, Boissonnet CP, Vinueza R, et al. Prevalence of the Metabolic Syndrome in Latin America and its association with sub-clinical carotid atherosclerosis: the CARMELA cross sectional study. *Cardiovascular Diabetology.* 2009; 8:52. doi:10.1186/1475-2840-8-52

25. Moreira GC, Cipullo JP, Ciorlia LAS, Cesarino CB, Vilela-Martin JF. Prevalence of Metabolic Syndrome: Association with Risk Factors and Cardiovascular Complications in an Urban Population. *PLoS ONE*. 2014; 9(9):e105056. doi:10.1371/journal.pone.0105056
26. Dutra ES, de Carvalho KMB, Miyazaki E, Merchán-Hamann E, Ito MK. Metabolic syndrome in central Brazil: prevalence and correlates in the adult population. *Diabetol Metab Syndr* 2012, 4(1):1-9. doi:10.1186/1758-5996-4-20
27. Silva AR, Tanaka ACA. Factors associated with menopausal symptom severity in middle-aged Brazilian women from the Brazilian Western Amazon. *Maturitas*. 2013; 76(1):64–69. doi: 10.1016/j.maturitas.2013.05.015
28. Sociedade Brasileira de Cardiologia (BR). I Diretriz Brasileira sobre Prevenção de Doenças Cardiovasculares em Mulheres Climatéricas e a Influência da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) e da Associação Brasileira do Climatério (SOBRAC). *Arq Bras Cardiol*. 2008; 91(1 supl.1):1-23.
29. Rocha, E. Síndrome metabólica: a sua existência e utilidade do diagnóstico na prática clínica. *Rev Port Cardiol*. 2012; 31(10):637-639.
30. Ouchi N, Ohashi K, Shibata R, Murohara T. Adipocytokines and obesity-linked disorders. *Nagoya J Med Sci*. 2012; 74:19-30.
31. Bezerra APM, de Oliveira DM. Síndrome metabólica: bases moleculares e fundamentos da interação com obesidade. *Demetra*. 2013; 8(1); 63-76.
32. Ponce-Garcia I, Simarro-Rueda M, Carbayo-Herencia JA, Divisón-Garrote JA, Artigao-Ródenas LM, Botella-Romero F, et al. Prognostic Value of Obesity on Both Overall Mortality and Cardiovascular Disease in the General Population. *PLoS ONE*. 2015; 10(5):e0127369. doi:10.1371/journal.pone.0127369

33. Gronner MF, Bosi PL, Carvalho AM, Casale G, Contrera D, Pereira MA, et al. Prevalence of metabolic syndrome and its association with educational inequalities among Brazilian adults: a population-based study. *Braz J Med Biol Res.* 2011; 44(7):713-9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2011007500087>
34. Haab RS, Benvegnú LA, Fischer EV. Prevalência de Síndrome Metabólica em uma área rural de Santa Rosa. *Rev bras med fam comunidade.* 2012; 7(23): 90-9. doi: 10.5712/rbmfc7(23)237.
35. Hausenloy DJ, Yellon DM. Targeting residual cardiovascular risk: raising high-density lipoprotein cholesterol levels. *Postgrad Med J.* 2008; 84(997):590-8
36. Huxley RR; Barzi F; Lam TH; Czernichow S; Fang X; Welborn T, et al. Isolated Low Levels of High-Density Lipoprotein Cholesterol Are Associated With an Increased Risk of Coronary Heart Disease. *Circulation.* 2011; 124:2056-2064. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.028373
37. Bettelheim AF, Brown WH, Campbell MK, Farrell SO, Torres O. *Introduction to General, Organic and Biochemistry*, 10th Ed. Cengage Learning: Florence, 2013.
38. Lüscher TF, Landmesser ULF, von Eckardstein A, Fogelman AM. High-Density Lipoprotein Vascular Protective Effects, Dysfunction, and Potential as Therapeutic Target. *Circ Res.* 2014; 114:171-182. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.114.300935
39. Conceição L, Reis R, Oliveira AP, Frazão A, Guerreiro J. Hipertensão arterial e sua distribuição entre os indicadores do excesso de gordura em afrodescendentes da ilha do Marajó-PA. In: V Congresso Norte-Nordeste de Pesquisa e Inovação; 2010. Disponível em: <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNepi2010/paper/viewFile/441/278>.

40. Martins MSAS, Ferreira MG, Guimarães LV, Vianna LAC. Hipertensão Arterial e Estilo de Vida em Sinop, Município da Amazônia Legal. *Arq Bras Cardiol.* 2010; 94(5):621–626. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2010005000028>
41. Oliveira BFA, Mourão DS, Gomes N, Costa JMC, Souza AV, Bastos WR, et al. Prevalência de hipertensão arterial em comunidades ribeirinhas do Rio Madeira, Amazônia Ocidental Brasileira. *Cad. Saúde Pública.* 2013; 29(8):1617-1630. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311X00146212>
42. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (BR). Censo Demográfico 2010 - Pará. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=pa&tema=resultuniverso_censo2010
43. Universidade Federal do Pará (BR). Relatório Analítico do Território do Marajó, Belém: UFPA. 2012; 79 p.
44. Salas R, Bibiloni MDM, Ramos E, Villarreal JZ, Pons A, et al. Metabolic Syndrome Prevalence among Northern Mexican Adult Population. 2014, *PLoS ONE* 9(8): e105581. doi:10.1371/journal.pone.0105581
45. Schelbert KB. Comorbidities of obesity. *Prim Care.* 2009; 36: 271-85.
46. Escobar FA. Relação entre Obesidade e Diabete Mellitus Tipo II em Adultos. *Cadernos UniFOA.* 2009; 11:69-72. Disponível em: <http://web.unifoa.edu.br/cadernos/edicao/11/69.pdf>
47. Mancini MC. Obesidade e Doenças Associadas. In: Mancini MC, Geloneze B, Salles JEN, Lima JG, Carra MK. *Tratado de Obesidade.* Itapevi: AC Farmacêutica. 2010; 253-264.
48. Rodrigo, CP. Current mapping of obesity. *Nutr Hosp.* 2013; 28(5):21-31.

49. Ministério da Saúde (BR). VIGITEL Brasil: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília, Rio de Janeiro: Agência Nacional de Saúde Suplementar, Ministério da Saúde; 2014.
50. Mariath AB, Grillo LP, Silva RO, Schmitz P, Campos IC, Medina JRP, et al. Obesidade e fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis entre usuários de unidade de alimentação e nutrição. *Cad Saude Publica*. 2007; 23(4):897-905.
51. Spalding A, Kernan J, Lockette W. The metabolic syndrome: a modern plague spread by modern technology. *J Clin Hypertens*. 2009; 11(12):755–760.
52. França FCO, Mendes ACR, Andrade IS, Ribeiro GS, Pinheiro IB. Mudanças dos hábitos alimentares provocados pela industrialização e o impacto sobre a saúde do brasileiro. In: *Anais do I Seminário Alimentação e Cultura na Bahia, 2012*. Disponível em: http://www2.uefs.br:8081/cer/wp-content/uploads/FRANCA_Fabiana.pdf
53. Peralta N, Alencar EF. Ecoturismo e Mudança Social na Amazônia Rural: efeitos sobre o papel da mulher e as relações de gênero *Campos*. 2008; 9(1):109-129. doi:<http://dx.doi.org/10.5380/cam.v9i1.13876>
54. Silva RJ, Garavello PE. Ensaio sobre transição alimentar e desenvolvimento em populações caboclas da Amazônia. *SAN*. 2012; 19(1): 1-7.
55. Portinho JA, Zimmermann LM, Bruck MR. Efeitos Benéficos do Açaí. *IJ Nutrology*. 2012; 5(1). 15-20.
56. Oliveira AG, Costa MCD, Rocha SMBM. Benefícios Funcionais do açaí na prevenção das doenças cardiovasculares. *Journal of Amazon Health Science*. 2015; 1(1): 1-10. Disponível em: <http://revistas.ufac.br/revista/index.php/ahs/article/view/39>
57. Muñoz MA, Bedoya G, Velásquez CM. An approach to the etiology of metabolic syndrome. *Colomb. Med*. 2013; 44 (1); 57-63.

58. Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, McPherson K, Finegood DT, Moodie ML, et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. 2011; 378: 804–14. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60813-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60813-1)
59. Schmidt MI, Duncan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. *Lancet*. 2011 4;377: 1949-1961. doi:10.1016/S0140-6736(11)60135-9. Disponível em: <http://press.thelancet.com/brazilpor4.pdf>
60. López-Jaramillo P, Sánchez RA, Diaz M, Cabos L, Bryce A, Parra-Carrillo JZ, et al. Consenso latino-americano de diabetes tipo 2 e síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2014; 58(3):205-225. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0004-2730000003019>
61. Gomes R, Nascimento EF, Araújo FC. Por que os homens buscam menos os serviços de saúde do que as mulheres? As explicações de homens com baixa escolaridade e homens com ensino superior. *Cad Saude Publica*. 2007; 23(3):565-574.
62. Silva DAS, Petroski EL, Peres MA. Accuracy and measures of association of anthropometric indexes of obesity to identify the presence of hypertension in adults: a population-based study in Southern Brazil. *Eur J Nutr*. 2013; 52(1):237-246. doi: 10.1007/s00394-012-0314-8
63. De Oliveira A, Cocate PG, Hermsdorff HHM, Bressan J, de Silva MF, Rodrigues JA, et al. Waist circumference measures: cutoff analyses to detect obesity and cardiometabolic risk factors in a Southeast Brazilian middle-aged men population: a cross-sectional study. *Lipids health dis*. 2014; 13:141. doi:10.1186/1476-511X-13-141

APÊNDICES

APÊNDICE 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1. Estou sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa sobre “Marcadores Epidemiológicos em Saúde no Arquipélago do Marajó”, que está sendo desenvolvida pela Universidade Federal do Pará, Instituto Evandro Chagas, Instituto Federal do Pará e HEMOPA.
2. Para que eu decida participar ou não da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações:
3. O título do projeto é “Marcadores Epidemiológicos em Saúde no Arquipélago do Marajó”.
4. O pesquisador responsável é o Prof. Dr. Ricardo Ishak, Biomédico, Professor Titular da Universidade Federal do Pará.
5. O objetivo da pesquisa é definir a situação epidemiológica de vários eventos da área de saúde humana, no Arquipélago do Marajó (particularmente, nas cidades de Chaves, Anajás, São Sebastião da Boa Vista e Portel), referentes à saúde da população em geral, doenças transmissíveis, alimentação e nutrição, saúde reprodutiva, práticas tradicionais de costumes terapêuticos, influência do meio ambiente na saúde, doenças crônicas (câncer cervical e outras neoplasias) e medidas de atenção a saúde, com o intuito de apresentar resultados concretos que possam ser utilizados em um novo modelo de desenvolvimento que busca a melhoria das condições de vida humana, nos municípios alvo e em toda a extensão territorial urbana e rural, por meio da inclusão social do homem marajoara.
6. Durante a pesquisa o paciente deverá responder a um questionário, depois será submetido a coleta de sangue, fezes ou material cervical para exame de laboratório. Além do material biológico humano, serão coletadas amostras de sangue oriundas de cães.
7. Essa pesquisa não oferece riscos; as práticas são de uso rotineiro e apenas uma pequena quantidade de sangue (4 mL) será coletada para a detecção de marcadores sorológicos e moleculares.
8. O material coletado poderá ser utilizado em estudos futuros.
9. Serão utilizados materiais esterilizados descartáveis, como agulhas, seringas, não oferecendo risco para o sujeito da pesquisa.

10. Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como poderá deixar a pesquisa no momento que quiser, pois não haverá prejuízo pessoal por esta causa.
11. Não haverá nenhum tipo de despesas para participação da pesquisa, assim como não haverá nenhuma forma de pagamento para participação.
12. O grande benefício desta pesquisa para todos os que participam, ou não, é possibilitar um melhor entendimento sobre a situação epidemiológica de vários eventos da área da saúde no Arquipélago do Marajó.
13. **A participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que, somente os pesquisadores ficarão sabendo de sua participação, sem a identificação individual do participante.**

Assinatura do Pesquisador Responsável

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido(a) acerca do conteúdo da mesma, assim como seus benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame. Local: _____

Data: ____/____/____

Protocolo: _____

Assinatura da participante

Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Virologia,
Fone/fax: (91) 3201-7587 e-mail: rishak@ufpa.br

APÊNDICE 2

Ficha-questionário

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO		Protocolo
ETILISMO - Já consumiu bebidas alcoólicas na vida?		
<input type="checkbox"/> N Não (se NÃO , ir para a próxima pergunta) <input type="checkbox"/> S Sim. Com que idade iniciou: <input type="text"/> ou <input type="checkbox"/> NL Não lembra		
Consome bebida alcoólica atualmente?		Uso de drogas ilícitas alguma vez: <input type="checkbox"/> SNC Sim, mas não quer comentar <input type="checkbox"/> S Sim Quais? <input type="text"/> ou <input type="checkbox"/> N Não
<input type="checkbox"/> N Com que idade parou: <input type="text"/> ou <input type="checkbox"/> NL Não lembra		
<input type="checkbox"/> S Sim Com que frequência você usa/usava bebida alcoólica? <input type="checkbox"/> TD Todo dia <input type="checkbox"/> 5A6S 5 a 6 dias na semana <input type="checkbox"/> 3A4S 3 a 4 dias na semana <input type="checkbox"/> 1A2S 1 a 2 dias na semana <input type="checkbox"/> 3A4M 3 a 4 dias no mês <input type="checkbox"/> 1A2M 1 a 2 dias no mês <input type="checkbox"/> MENOS1M Menos de uma vez no mês <input type="checkbox"/> NL Não lembro		<input type="checkbox"/> NC Não quer comentar sobre o assunto
		Se SIM, há quanto tempo faz uso de drogas: <input type="text"/> Parou? <input type="checkbox"/> N Não OU <input type="checkbox"/> S Sim Tempo de abstinência: (Ano do último uso) <input type="text"/> <small>Atenção: assinalar A = anos OU M = meses</small>
Atualmente, tem vida sexualmente ativa: <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> N Não <small>Se NÃO, quanto tempo desde a última relação sexual (ou contato genital com genital):</small> <input type="text"/>		
Início da vida sexual: <input type="checkbox"/> 10A15 10-15 anos <input type="checkbox"/> 16A20 16-20 anos <input type="checkbox"/> 21A25 21-25 anos <input type="checkbox"/> MAIS25 >25 anos		
Opção sexual: <input type="checkbox"/> HOMO Homossexual <input type="checkbox"/> BI Bissexual <input type="checkbox"/> HETERO Heterossexual		
Atualmente tem parceiro fixo? <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> N Não		
Frequência de relações: <input type="checkbox"/> S por semana OU <input type="checkbox"/> M por mês OU <input type="checkbox"/> A por ano		
Número de parceiros sexuais: no último ano <input type="text"/> N OVOS no último ano <input type="text"/> em TODA VIDA <input type="text"/>		
Mantém (ou já manteve) relações sexuais com trabalhador(a) comercial do sexo? <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> N Não <input type="checkbox"/> NS Não sabe		
Usa preservativo? <input type="checkbox"/> S Sempre <input type="checkbox"/> N Nunca <input type="checkbox"/> AV às vezes		
Você sabe o que significa DST? <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> N Não <small>(se NÃO, esclarecer o que é)</small>		
Já teve DST?: <input type="checkbox"/> N Não <input type="checkbox"/> S Sim Frequência: <input type="checkbox"/> 1 1 vez <input type="checkbox"/> 1A5 1 a 5 vezes <input type="checkbox"/> MAIS5 >5 vezes Quais? Lembra? <input type="text"/>		
Já realizou exame de endoscopia digestiva: <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> NL Não lembra <input type="checkbox"/> N Não		
Diagnóstico positivo para <i>H. pylori</i>: <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> N Não		
Possui diagnóstico positivo para câncer? <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> N Não Qual? <input type="text"/>		
Alguém da família tem (teve) câncer? <input type="checkbox"/> S Sim <input type="checkbox"/> N Não Qual parente? <input type="text"/> Sabe o tipo? <input type="text"/>		

EXAME NUTRICIONAL

Protocolo

DADOS ANTROPOMÉTRICOS

Peso atual (Kg)

Peso usual (Kg):

Altura (m)

IMC (Kg/m²):

Classificação IMC: **DES** Desnutrição **EU** Eutrofia **SP** Sobrepeso **OB** Obesidade

DESNUTRIÇÃO: **1** Grau I **2** Grau II **3** Grau III

PCT (mm):

Média:

PCB (mm):

Média:

PCSE (mm):

Média:

PCSI (mm):

Média:

Classificação (somatória): **DES** Desnutrição **EU** Eutrofia **SP** Sobrepeso **OB** Obesidade

CB (cm):

Classificação da CB: **DES** Desnutrição **EU** Eutrofia **SP** Sobrepeso **OB** Obesidade

Circunferência do
Cintura (cm):

Circunferência do
Quadril (cm):

Relação
Cintura/Quadril:

Circunferência
da panturrilha
(> 60 anos)

Classificação da CP: **DES** Desnutrição (≤ 31 cm) **EU** Eutrofia (> 31 cm)

Realizou aleitamento materno? (verificar somente para crianças com idade de até 5 anos)

S Sim **N** Não

Caso responda sim,

Leite materno exclusivo, quanto tempo?

Alimentação mista, quanto tempo?

Especificar: **A** = ano
M = mês
S = semana
D = dia

PAS = pressão arterial sistólica (máxima)

mmHg

PAD = pressão arterial diastólica (mínima)

mmHg

Observação

ANEXOS

ANEXO 1



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



COMITÊ DE ÉTICA
EM PESQUISA

Parecer Consubstanciado

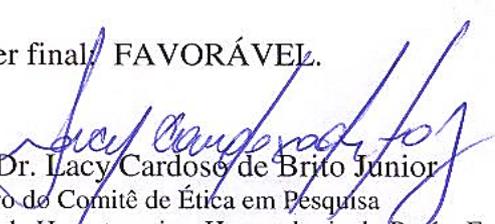
Belém, 14 de julho de 2010.

Parecer nº 0003.0.324.000-10

O projeto “MARCADORES EPIDEMIOLÓGICOS EM SAÚDE NO ARQUIPÉLAGO DO MARAJÓ”, do(a) pesquisador(a) Prof(a). Dr(a). Ricardo Ishak, professora da Faculdade de Biomedicina, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará, foi recebido neste CEP em 02/03/2009, apresentou todos os documentos exigidos, tendo então sido levado à análise prévia de dois membros do comitê, cujos pareceres foram considerados como base para fundamentação do parecer final.

O referido protocolo de pesquisa demonstra o compromisso do(a) coordenador(a) de que o mesmo seja executado de acordo com o cronograma proposto, estando bem estruturado nos seus aspectos metodológicos e éticos, com bibliografia pertinente e Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de boa compreensão e entendimento para o sujeito da pesquisa. Estando de acordo com a Res. CNS 196/96.

Parecer final: FAVORÁVEL.


Prof. Dr. Lacy Cardoso de Brito Junior
Membro do Comitê de Ética em Pesquisa
Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará – Fundação HEMOPA
Travessa Padre Eutíquio 2109, CEP 66033-000 - Belém-Pará
Fone: 91 3242 9100 Ramal: 361

Submission Guidelines – PloS ONE

Style and Format

File format Manuscript files can be in the following formats: DOC, DOCX, RTF, or PDF. Microsoft Word documents should not be locked or protected.

Length LaTeX manuscripts must be submitted as PDFs. Manuscripts can be any length. There are no restrictions on word count, number of figures, or amount of supporting information.

Font We encourage you to present and discuss your findings concisely.

Use any standard font and a standard font size.

Headings Limit manuscript sections and sub-sections to 3 heading levels. Make sure heading levels are clearly indicated in the manuscript text.

Layout Manuscript text should be double-spaced.

Do not format text in multiple columns.

Page and line numbers Include page numbers and line numbers in the manuscript file.

Footnotes Footnotes are not permitted. If your manuscript contains footnotes, move the information into the main text or the reference list, depending on the content.

Language Manuscripts must be submitted in English.

Abbreviations You may submit translations of the manuscript or abstract as supporting information. Define abbreviations upon first appearance in the text.

Do not use non-standard abbreviations unless they appear at least three times in the text.

Keep abbreviations to a minimum.

Reference style PLOS uses “Vancouver” style, as outlined in the ICMJE sample references.

See reference formatting examples and additional instructions below.

Equations We recommend using MathType for display and inline equations, as it will provide the most reliable outcome. If this is not possible, Equation Editor is acceptable.

Avoid using MathType or Equation Editor to insert single variables (e.g., \mathcal{A} or Qz) in running text. Wherever possible, single symbols should be inserted as normal text with the correct Unicode (hex) values.

Do not use MathType or Equation Editor for only a portion of an equation. Rather, ensure that the entire equation is included. Avoid “hybrid” inline or display equations, in which part is text and part is MathType, or part is MathType and part is Equation Editor.

Use correct and established nomenclature wherever possible.

Nomenclature	<i>Units of measurement</i>	Use SI units. If you do not use these exclusively, provide the SI value in parentheses after each value. Read more about SI units.
	<i>Drugs</i>	Provide the Recommended International Non-Proprietary Name (rINN).
	<i>Species names</i>	Write in italics (e.g., <i>Homo sapiens</i>). Write out in full the genus and species, both in the title of the manuscript and at the first mention of an organism in a paper. After first mention, the first letter of the genus name followed by the full species name may be used (e.g., <i>H. sapiens</i>).
	<i>Genes, mutations, genotypes, and alleles</i>	Write in italics. Use the recommended name by consulting the appropriate genetic nomenclature database (e.g., HUGO for human genes). It is sometimes advisable to indicate the synonyms for the gene the first time it appears in the text. Gene prefixes such as those used for oncogenes or cellular localization should be shown in roman typeface (e.g., v-fes, c-MYC).

Manuscript Organization

Manuscripts should be organized as follows. Instructions for each element appear below the list.

Beginning section *The following elements are required, in order:*

- Title page: List title, authors, and affiliations as first page of manuscript
- Abstract
- Introduction

Middle section *The following elements can be renamed as needed and presented in any order:*

- Materials and Methods
- Results
- Discussion
- Conclusions (optional)

Ending section *The following elements are required, in order:*

- Acknowledgments
- References
- Supporting Information Captions (if applicable)

Other elements

- Figure captions are inserted immediately after the first paragraph in which the figure is cited. Figure files are uploaded separately.
- Tables are inserted immediately after the first paragraph in which they are cited.
- Supporting information files are uploaded separately.

Parts of a Submission

Title

Include a full title and a short title for the manuscript.

Title	Length	Guidelines	Examples
Full title	250 characters	Specific, descriptive, concise, and comprehensible to readers outside the field	Impact of Cigarette Smoke Exposure on Innate Immunity: A <i>Caenorhabditis elegans</i> Model Solar Drinking Water Disinfection (SODIS) to Reduce Childhood Diarrhoea in Rural Bolivia: A Cluster-Randomized, Controlled Trial
Short title	50 characters	State the topic of the study	Cigarette Smoke Exposure and Innate Immunity SODIS and Childhood Diarrhoea

Titles should be written in title case (all words capitalized except articles, prepositions, and conjunctions). Avoid specialist abbreviations if possible. For clinical trials, systematic reviews, or meta-analyses, the subtitle should include the study design.

Author list

Author names and affiliations

Enter author names on the title page of the manuscript and in the online submission system.

On the title page, write author names in the following order:

- First name (or initials, if used)
- Middle name (or initials, if used)
- Last name (surname, family name)

Each author on the list must have an affiliation. The affiliation includes department, university, or organizational affiliation and its location, including city, state/province (if applicable), and country.

If an author has multiple affiliations, enter all affiliations on the title page only. In the submission system, enter only the preferred or primary affiliation.

Corresponding author

One corresponding author should be designated in the submission system as well as on the title page.

One corresponding author should be designated in the submission system. However, this does not restrict the number of corresponding authors that may be listed on the article in the event of publication. Whoever is designated as a corresponding author on the title page of the manuscript file will be listed as such upon publication.

Include an email address for each corresponding author listed on the title page of the manuscript.

Consortia and group authorship

If a manuscript is submitted on behalf of a consortium or group, include the consortium or group name in the author list, and include the full list of members in the Acknowledgments or in a Supporting Information file.

The corresponding author is responsible for making sure all authors approve the final manuscript before submission. *PLOS ONE* will contact all authors by email at submission to ensure that they are aware of the submission

Cover letter

Upload a cover letter as a separate file in the online system. The length limit is 1 page.

The cover letter should include the following information:

- Summarize the study's contribution to the scientific literature
- Relate the study to previously published work
- Specify the type of article (for example, research article, systematic review, meta-analysis, clinical trial)
- Describe any prior interactions with PLOS regarding the submitted manuscript
- Suggest appropriate Academic Editors to handle your manuscript
- List any opposed reviewers

Title page

The title, authors, and affiliations should all be included on a title page as the first page of the manuscript file.

Abstract

The Abstract comes after the title page in the manuscript file. The abstract text is also entered in a separate field in the submission system.

The Abstract should:

- Describe the main objective(s) of the study
- Explain how the study was done, including any model organisms used, without methodological detail
- Summarize the most important results and their significance
- Not exceed 300 words

Abstracts should not include:

- Citations
- Abbreviations, if possible

Introduction

The introduction should:

- Provide background that puts the manuscript into context and allows readers outside the field to understand the purpose and significance of the study
- Define the problem addressed and why it is important
- Include a brief review of the key literature
- Note any relevant controversies or disagreements in the field
- Conclude with a brief statement of the overall aim of the work and a comment about whether that aim was achieved

Materials and Methods

The Materials and Methods section should provide enough detail to allow suitably skilled investigators to fully replicate your study. Specific information and/or protocols for new methods should be included in detail. If materials, methods, and protocols are well established, authors may cite articles where those protocols are described in detail, but the submission should include sufficient information to be understood independent of these references.

We encourage authors to submit detailed protocols for newer or less well-established methods as Supporting Information.

Human or animal subjects and/or tissue or field sampling

Methods sections describing research using human or animal subjects and/or tissue or field sampling must include required ethics statements.

Data

Methods sections of manuscripts using data that should be deposited in a publicly available database should specify where the data have been deposited and provide the relevant accession numbers and version numbers, if appropriate. Accession numbers should be provided in parentheses after the entity on first use.

If the accession numbers have not yet been obtained at the time of submission, please state that they will be provided during review. They must be provided prior to publication.

Cell lines

Methods sections describing research using cell lines must state the origin of the cell lines used.

New taxon names

Methods sections of manuscripts adding new taxon names to the literature must follow the

Results, Discussion, Conclusions

These sections may all be separate, or may be combined to create a mixed Results/Discussion section (commonly labeled “Results and Discussion”) or a mixed Discussion/Conclusions section (commonly labeled “Discussion”). These sections may be further divided into subsections, each with a concise subheading, as appropriate. These sections have no word limit, but the language should be clear and concise.

Together, these sections should describe the results of the experiments, the interpretation of these results, and the conclusions that can be drawn.

Authors should explain how the results relate to the hypothesis presented as the basis of the study and provide a succinct explanation of the implications of the findings, particularly in relation to previous related studies and potential future directions for research.

PLOS ONE editorial decisions do not rely on perceived significance or impact, so authors should avoid overstating their conclusions. See the *PLOS ONE* Criteria for Publication for more information.

Acknowledgments

Those who contributed to the work but do not meet our authorship criteria should be listed in the Acknowledgments with a description of the contribution.

Authors are responsible for ensuring that anyone named in the Acknowledgments agrees to be named.

Do not include funding sources in the Acknowledgments or anywhere else in the manuscript file. Funding information should only be entered in the financial disclosure section of the online submission system.

References

Any and all available works can be cited in the reference list. Acceptable sources include:

- Published or accepted manuscripts
- Manuscripts on pre-print servers, if the manuscript is submitted to a journal and also publicly available as a pre-print

Do not cite the following sources in the reference list:

- Unavailable and unpublished work, including manuscripts that have been submitted but not yet accepted (e.g., “unpublished work,” “data not shown”). Instead, include those data as supplementary material or deposit the data in a publicly available database.
- Personal communications (these should be supported by a letter from the relevant authors but not included in the reference list)

References are listed at the end of the manuscript and numbered in the order that they appear in the text. In the text, cite the reference number in square brackets (e.g., “We used the techniques developed by our colleagues [19] to analyze the data”). PLOS uses the numbered citation (citation-sequence) method and first six authors, et al.

Do not include citations in abstracts or author summaries.

Make sure the parts of the manuscript are in the correct order *before* ordering the citations.

Formatting references

PLOS uses the reference style outlined by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), also referred to as the “Vancouver” style. Example formats are listed below. Additional examples are in the ICMJE sample references.

Journal name abbreviations should be those found in the National Center for Biotechnology Information (NCBI) databases.

Source	Format
Published articles	<p>Hou WR, Hou YL, Wu GF, Song Y, Su XL, Sun B, et al. cDNA, genomic sequence cloning and overexpression of ribosomal protein gene L9 (rpL9) of the giant panda (<i>Ailuropoda melanoleuca</i>). Genet Mol Res. 2011;10: 1576-1588.</p> <p>Devaraju P, Gulati R, Antony PT, Mithun CB, Negi VS. Susceptibility to SLE in South Indian Tamils may be influenced by genetic selection pressure on TLR2 and TLR9 genes. Mol Immunol. 2014 Nov 22. pii: S0161-5890(14)00313-7. doi: 10.1016/j.molimm.2014.11.005</p> <p><i>Note: A DOI number for the full-text article is acceptable as an alternative to or in addition to traditional volume and page numbers.</i></p>
Accepted, unpublished articles	Same as published articles, but substitute “In press” for page numbers or DOI.
Web sites or online articles	Huynen MMTE, Martens P, Hilderlink HBM. The health impacts of globalisation: a conceptual framework. Global Health. 2005;1: 14. Available: http://www.globalizationandhealth.com/content/1/1/14 .
Books	Bates B. Bargaining for life: A social history of tuberculosis. 1st ed. Philadelphia: University of Pennsylvania Press; 1992.
Book chapters	Hansen B. New York City epidemics and history for the public. In: Harden VA, Risse GB, editors. AIDS and the historian. Bethesda: National Institutes of Health; 1991. pp. 21-28.
Deposited articles (preprints, e-prints, or arXiv)	Krick T, Shub DA, Verstraete N, Ferreiro DU, Alonso LG, Shub M, et al. Amino acid metabolism conflicts with protein diversity; 1991. Preprint. Available: arXiv:1403.3301v1. Accessed 17 March 2014.
Published media (print or online newspapers and magazine articles)	Fountain H. For Already Vulnerable Penguins, Study Finds Climate Change Is Another Danger. The New York Times. 29 Jan 2014. Available: http://www.nytimes.com/2014/01/30/science/earth/climate-change-taking-toll-on-penguins-study-finds.html . Accessed 17 March 2014.
New media (blogs, web sites, or other written works)	Allen L. Announcing PLOS Blogs. 2010 Sep 1 [cited 17 March 2014]. In: PLOS Blogs [Internet]. San Francisco: PLOS 2006 - . [about 2 screens]. Available: http://blogs.plos.org/plos/2010/09/announcing-plos-blogs/ .
Masters' theses or doctoral dissertations	Wells A. Exploring the development of the independent, electronic, scholarly journal. M.Sc. Thesis, The University of Sheffield. 1999. Available: http://cumincad.scix.net/cgi-bin/works/Show?2e09
Databases and repositories (Figshare, arXiv)	Roberts SB. QPX Genome Browser Feature Tracks; 2013. Database: figshare [Internet]. Accessed: http://figshare.com/articles/QPX_Genome_Browser_Feature_Tracks/701214 .
Multimedia (videos, movies, or TV shows)	Hitchcock A, producer and director. Rear Window [Film]; 1954. Los Angeles: MGM.

Supporting Information

Authors can submit essential supporting files and multimedia files along with their manuscripts. All Supporting Information will be subject to peer review. All file types can be submitted, but files must be smaller than 10 MB in size.

Authors may use almost any description as the item name for a Supporting Information file as long as it contains an “S” and number. For example, “S1 Appendix” and “S2 Appendix,” “S1 Table” and “S2 Table,” and so forth.

Supporting files should be publication-ready, as they are not copyedited.

Supporting Information captions

List Supporting Information captions at the end of the manuscript file. Do not submit captions in a separate file.

The file number and name are required in a caption, and we highly recommend including a one-line title as well. You may also include a legend in your caption, but it is not required.

In-text citations

We recommend that you cite Supporting Information in the manuscript text, but this is not a requirement. If you cite Supporting Information in the text, citations do not need to be in numerical order.

Figures and tables

Figures

Do not include figures in the main manuscript file. Each figure must be prepared and submitted as an individual file.

Cite figures in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

Figure captions

Figure captions must be inserted in the text of the manuscript, immediately following the paragraph in which the figure is first cited (read order). Do not include captions as part of the figure files themselves or submit them in a separate document.

At a minimum, include the following in your figure captions:

- A figure label with Arabic numerals, and “Figure” abbreviated to “Fig” (e.g. Fig 1, Fig 2, Fig 3, etc). Match the label of your figure with the name of the file uploaded at submission (e.g. a figure citation of “Fig 1” must refer to a figure file named “Fig1.tif”).
- A concise, descriptive title

The caption may also include a legend as needed.

Tables

Cite tables in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

Place each table in your manuscript file directly after the paragraph in which it is first cited (read order). Do not submit your tables in separate files.

Tables require a label (e.g., “Table 1”) and brief descriptive title to be placed above the table. Place legends, footnotes, and other text below the table.