

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Medicina
Departamento de Medicina Social
Programa de Pós-graduação em Epidemiologia



TESE

Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica na vida adulta

Francine Silva dos Santos

Pelotas, 2021

Francine Silva dos Santos

Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica na vida adulta

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

Orientadora: Prof^ª Dr^a Denise Petrucci Gigante

Coorientadoras: Prof^ª Dr^a Gicele Costa Mintem e Prof^ª Dr^a Isabel Oliveira de Oliveira

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S237c Santos, Francine Silva dos

Consumo de alimentos ultraprocessados e Interleucina-6 sérica na vida adulta / Francine Silva dos Santos ; Denise Petrucci Gigante, orientadora ; Gicele Costa Mintem, Isabel Oliveira de Oliveira, coorientadoras. — Pelotas, 2021.

227 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Epidemiologia. 2. Interleucina-6. 3. Consumo de alimentos. 4. Alimentos industrializados. 5. Doenças cardiovasculares. I. Gigante, Denise Petrucci, orient. II. Mintem, Gicele Costa, coorient. III. Oliveira, Isabel Oliveira de, coorient. IV. Título.

CDD : 614.4

Francine Silva dos Santos

Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica na vida adulta

Banca Examinadora:

Professora Doutora Luciana Tovo Rodrigues (examinador interno)

Doutora em Genética e Biologia Molecular

Universidade Federal de Pelotas

Professora Doutora Janaína Vieira dos Santos Motta (examinador interno)

Doutora em Epidemiologia

Universidade Federal de Pelotas

Professor Doutor Carlos Augusto Monteiro (examinador externo)

Doutor em Saúde Pública

Universidade de São Paulo

Professora Doutora Denise Petrucci Gigante (orientadora)

Doutora em Epidemiologia

Universidade Federal de Pelotas

Professora Doutora Gicele Costa Mintem (coorientadora)

Doutora em Epidemiologia

Universidade Federal de Pelotas

Professora Doutora Isabel Oliveira de Oliveira (coorientadora)

Doutora em Ciências Biológicas (Fisiologia)

Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

A Deus e ao plano espiritual por todas as benções em minha vida.

Aos meus pais, Luis Antônio e Carmen Lúcia, pelo empenho em me proporcionarem EDUCAÇÃO. À minha irmã, Liziane e família, que além de trazer ao nosso mundo os meus sobrinhos, Aisha e Akin, que tornaram esses anos de doutorado muito mais leves, sempre soube me dar sábios conselhos. Agradeço a vocês pelo amor incondicional e por me conduzirem para os melhores caminhos da vida.

Sendo um momento único em nossa família, agradeço aos meus ancestrais, e mesmo aqueles que apenas escutei histórias sintam-se agradecidos através dos meus avós paternos, Adelina e Aristides, e maternos, Darcy e Zilda. A esta última, dedico um agradecimento especial por ter mostrado à nossa família a importância da EDUCAÇÃO.

À minha tia Vera e família, ao irmão Alexandre e família e Silvia Terra por todo o carinho e amor, mesmo com a distância.

À mestre griô Sirley Amaro que nos deixou em 2020, mas que com toda a sua sabedoria foi um presente que recebi de Pelotas.

Às professoras Denise Gigante, Gicele Mintem e Isabel Oliveira pela condução sábia da orientação, mas sobretudo, pela confiança, oportunidades que me proporcionaram ao longo da minha trajetória acadêmica e preocupação que sempre demonstraram comigo. São uma referência profissional para mim, como professoras e pesquisadoras. Obrigada por contribuírem para a minha formação, me mostrarem como ser uma excelente profissional e tornarem este trabalho possível e agradável.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia (PPGEpi) e da Faculdade de Nutrição pela dedicação em minha formação e de tantos

outros alunos. Um particular agradecimento à professora Eliana Bender, pelas longas conversas, conselhos e incentivos.

À equipe e coordenadores da coorte de 1982, pela autorização e suporte na utilização dos dados do estudo. Assim como, aos participantes de todas as Coortes de Pelotas, que possibilitam a realização destes estudos que fazem da CIÊNCIA BRASILEIRA reconhecida internacionalmente.

Às técnicas e professoras do laboratório do Centro de Pesquisas Epidemiológicas pelo trabalho na dosagem da interleucina-6. Um particular agradecimento à Clarice e Gabriela, pela amizade construída no período em que fui bolsista do laboratório.

A todos os colegas do PPGEpi, com quem compartilhei importantes momentos desta minha caminhada. Um especial agradecimento à Mariane, Marina, Luisa, Priscila, Laisa, Patrice e Pilar, espero que a vida nos propicie muitos reencontros. E aos colegas do Epi Clube pelos momentos de aprendizado, para além dos conteúdos acadêmicos.

Ao Madson por ter compartilhado comigo diversos momentos deste doutorado.

Às amigas de longa data, Gabriela, Vithória, Franciane, Bárbara e Tauana pelo apoio e compreensão pelos momentos de ausência.

As minhas amigas de “casa” em Pelotas, Débora, Jéssica e Taiane pelos especiais momentos que dividimos nesses anos de convivência.

Quando minha “casa” se tornou o Porto/Portugal, no período de doutorado sanduíche, às amigas da “casa 56”, que se tornaram uma família, Maryanna, Francisca e Carolina, obrigada pelo amor que temos uma pela outra e que foi imprescindível para lidar com este ano desafiador. Que a vida ainda nos traga muitos reencontros.

À amiga Michele e família por literalmente ter aberto as portas da sua casa quando cheguei ao Porto.

Às colegas do Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto, que me receberam de braços abertos e fizeram o possível para minha integração, mesmo em um ano com longos períodos de confinamento, como foi 2020. Um agradecimento especial à professora Carla Lopes pela orientação no doutorado sanduíche.

Aos participantes e coordenadores do estudo de coorte *Epidemiological Health Investigation of Teenagers in Porto* – EPITeen, o qual integrou o presente trabalho.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite e despenderem o seu valioso tempo e conhecimento na revisão desta tese.

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro e institucional no país (código de financiamento 001) e no exterior (processo: 201725/2019-3).

Resumo

SANTOS, Francine Silva. **Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica na vida adulta**. Orientadora: Denise Petrucci Gigante. 2021. 224 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia) – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

A interleucina-6 (IL-6) apresenta relação causal com doenças cardiovasculares, as quais são a principal causa de morbimortalidade no mundo. Um dos principais fatores de risco comportamentais para as doenças cardiovasculares é a alimentação não saudável e o consumo de alimentos ultraprocessados tem sido observado em diversas populações, em nível mundial. Ainda, é crescente o corpo de evidências sobre a relação entre consumo de alimentos ultraprocessados e danos à saúde. Portanto, o primeiro artigo da presente tese teve por objetivo revisar a literatura para compreender a relação entre o grau de processamento de alimentos e fatores metabólicos de risco cardiovascular. Conclui-se que o consumo de alimentos ultraprocessados pode aumentar o risco para obesidade em adultos, com nível de evidência moderada. No segundo artigo foi investigada a associação dos fatores socioeconômicos e comportamentais com a concentração sérica de IL-6 aos 30 anos de idade, utilizando dados de 2809 participantes da Corte de Nascimentos de 1982 – Pelotas/ RS. Entre os homens, baixa escolaridade e tabagismo foram relacionadas com dosagens médias mais elevadas de IL-6 sérica, enquanto a ancestralidade africana e a menor renda estiveram associadas às concentrações mais elevadas desse biomarcador inflamatório nas mulheres. E ainda, a atividade física apresentou relação inversa com a média de IL-6 entre mulheres. Em ambos os sexos, a adiposidade foi o principal preditor da concentração sérica desse biomarcador. Por fim, o terceiro artigo desta tese propôs avaliar, longitudinalmente, a associação entre consumo de alimentos ultraprocessados e inflamação crônica, mensurada por IL-6 sérica, e investigar o papel mediador de adiposidade nesta associação. Foram analisados dados de dois estudos de coorte de Portugal (n = 524) e do Brasil (n = 2888). Mulheres da coorte portuguesa, pertencentes ao terceiro (2,20 pg/mL; IC 95% 1,60; 3,01) e quarto (2,64 pg/mL; IC 95% 1,89; 3,69) quartis de consumo de alimentos ultraprocessados apresentaram maior média de IL-6 comparada aquelas do primeiro (1,31 pg/mL; IC 95% 0,95; 1,82). Em Pelotas, homens pertencentes ao terceiro (1,50 pg/mL; IC 95% 1,41; 1,59) e quarto (1,59 pg/mL; IC 95% 1,49; 1,70) quartis de consumo de alimentos ultraprocessados tinham maior média de IL-6 do que aqueles do primeiro (1,40 pg/mL; IC 95% 1,32; 1,49). O valor-p de tendência linear foi significativo (<0.01) em ambos os achados. Ainda, não houve evidência estatística de que adiposidade seja um mediador da relação entre alimentos ultraprocessados e interleucina-6.

Palavras-chave: interleucina-6; consumo de alimentos; alimentos industrializados; doenças cardiovasculares; adulto; epidemiologia.

Abstract

SANTOS, Francine Silva. **Consumption of ultra-processed food and serum interleukin-6 in adulthood.** Advisor: Denise Petrucci Gigante. 2021. 224 f. Thesis (Ph.D. in Epidemiology) - Post-Graduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Interleukin-6 (IL-6) presents a causal relationship with cardiovascular diseases, which are the main cause of morbidity and mortality worldwide. One of the most important behavioural risk factors of cardiovascular diseases is an unhealthy diet, and the consumption of ultra-processed foods has been observed among several populations worldwide. Besides, there is a growing body of evidence on the relationship between consumption of ultra-processed foods and damage to health. Therefore, the first article of this thesis aimed to review the literature to understand the relationship between food processing and cardiometabolic risk factors. It was concluded that the consumption of ultra-processed foods may increase the risk for obesity among adults, with moderate level of evidence. In the second article, socioeconomic and behavioural factors associated with the serum concentration of IL-6 at 30 years of age were investigated, using data from 2809 participants of the 1982 Pelotas Birth Cohort. Among men, low education and smoking were associated with serum IL-6, while African ancestry and lower-income were associated with the highest concentrations of this inflammatory biomarker among women. Also, physical activity showed an inverse relationship with mean IL-6 among women. In both sexes, adiposity was the main predictor of serum concentrations of this biomarker. Finally, the third article of this Ph.D. thesis aimed to evaluate longitudinally the association between consumption of ultra-processed foods and chronic inflammation, measured by serum IL-6, and to investigate the mediating role of adiposity in this association. We analysed two cohort studies data from Portugal ($n = 524$) and Brazil ($n = 2888$). Females from the EPITeen belonging to the third (2.20 pg/mL; 95% CI 1.60; 3.01) and fourth (2.64 pg/mL; 95% CI 1.89; 3.69) quartiles of UPF consumption had higher mean IL-6 compared to those from the first quartile (1.31 pg/mL; 95% CI 0.95; 1.82). In Pelotas, males who were within the third (1.50 pg/mL; 95% CI 1.41; 1.59) and fourth (1.59 pg/mL; 95% CI 1.49; 1.70) quartiles of UPF consumption had higher means of IL-6 than those from the first (1.40 pg/mL; 95% CI 1.32; 1.49). The p-value of linear trend was significant (< 0.01) in both findings. Furthermore, there was no statistical evidence that adiposity is a mediator of the relationship between ultra-processed foods and interleukin-6.

Keywords: interleukin-6; food consumption; industrialized foods; cardiovascular diseases; adult; epidemiology.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%MG	Percentual de massa gorda
ACP	Análise de componentes principais
AHA	<i>American Heart Association</i>
AHEI	<i>Alternative Healthy Eating Index</i>
AMP	Alimentos minimamente processados
AUDIT	<i>Alcohol Use Disorders Identification Test</i>
AUP ou UPF	Alimentos ultraprocessados ou <i>Ultra-processed foods</i>
BSDS	<i>Baltic Sea Diet Score</i>
BSF-2	<i>B-cell stimulatory factor 2</i>
CDII	<i>Composite dietary inflammatory index</i>
CC ou WC	Circunferência da cintura ou <i>Waist circumference</i>
DAG	Gráfico acíclico direcionado
DASH	<i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i>
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV ou CVD	Doenças cardiovasculares ou <i>Cardiovascular diseases</i>
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
DEXA ou DXA	Absorciometria de Dupla Emissão de Raios X ou <i>Dual-energy X-ray absorptiometry</i>
DII	<i>Dietary inflammatory index</i>
DM2	<i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
ECR	Ensaio clínico randomizado
EDIP	<i>Empirical dietary inflammatory pattern</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EPITeen	<i>Epidemiological Health Investigation of Teenagers in Porto</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FBDGs	<i>Food-based dietary guidelines</i>
GC	Gordura corporal
gp130	Glicoproteína 130

GRADE	<i>Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation</i>
GWAS	<i>Genomewide Association Studies</i>
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HGF	<i>Hybridoma growth fator</i>
HLS	<i>Healthy Lifestyle Score</i>
HSF	<i>Hepatocyte-stimulating fator</i>
ICP	Ingredientes culinários processados
IF- β 2	<i>Interferon β2</i>
IL-1	Interleucina-1
IL-6	Interleucina-6 ou <i>Interleukin-6</i>
IL-6R	Receptor de membrana da interleucina-6
IMC ou BMI	Índice de massa corporal ou <i>Body mass index</i>
IPAQ	International Physical Activity Questionnaire
JAK	Janus quinases
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lipase lipoprotéica
M.I.N.I.	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview</i>
MAPK	<i>Mitogen activated protein kinase</i>
MDS	<i>Mediterranean Diet Score</i>
MESH	<i>Medical Subject Headings</i>
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
OMS ou WHO	Organização Mundial da Saúde ou <i>World Health Organization</i>
ONU	Organização das Nações Unidas
OPAS ou PAHO	Organização Pan-Americana da Saúde ou <i>Pan American Health Organization</i>
PA	Padrões alimentares
PCR	Proteína-C reativa
PI3K	<i>Phosphatidylinositide-3-kinase</i>
PLS	<i>Partial least squares regression</i>
PPGEpi	Programa de pós-graduação em Epidemiologia

PRISMA	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>
PROSPERO	<i>International Prospective Register of Systematic Reviews</i>
QFA ou FFQ	Questionário de frequência alimentar ou <i>Food frequency questionnaire</i>
QI-WAIS	<i>Wechsler Adult Intelligence Scale</i>
RRR	<i>Reduced rank regression</i>
SES	<i>Socioeconomic status</i>
sgp130	Glicoproteína 130 solúvel
SHP-2	<i>Protein tyrosine phosphatase-2</i>
sIL-6R	Receptor solúvel da interleucina-6
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único
SOCS	<i>Suppressors of cytokine signaling</i>
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
STROBE	<i>Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology</i>
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos ou <i>Brazilian Table of Food Composition</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TNF- α	Fator de necrose tumoral- α
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i>

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	15
SEÇÃO I. PROJETO DE PESQUISA	17
1. INTRODUÇÃO	24
2. MARCO TEÓRICO	26
2.1 Consumo alimentar: métodos de avaliação e classificação tradicional dos alimentos... 26	
2.1.1 <i>Processamento de alimentos e a classificação NOVA</i>	29
2.1.1.1 <i>Classificação NOVA: evidências de estudos epidemiológicos</i>	32
2.2 Interleucina-6: breve histórico e contextualização	33
2.2.1 <i>Síntese e vias de sinalização da interleucina-6</i>	35
2.2.2 <i>Uma abordagem epidemiológica da interleucina-6 e fatores de risco para doenças cardiovasculares</i>	38
2.3 Consumo alimentar e interleucina-6	41
2.3.1 <i>Revisão de literatura</i>	44
2.3.1.1 <i>Considerações sobre a revisão de literatura</i>	45
2.4 Modelo conceitual.....	48
3. JUSTIFICATIVA	50
4. OBJETIVOS	51
4.1 <i>Objetivo Geral</i>	51
4.2 <i>Objetivos Específicos</i>	51
5. HIPÓTESES	52
6. METODOLOGIA.....	53
6.1 Metodologia do artigo de revisão sistemática de literatura	53
6.1.1 <i>Crerios de elegibilidade</i>	54
6.1.2 <i>Etapas da seleção dos estudos</i>	54
6.1.3 <i>Análise dos dados</i>	54
6.2 Metodologia dos artigos originais	55
6.2.1 <i>Delineamento</i>	55
6.2.2 <i>População em estudo</i>	56
6.2.3 <i>Cálculo de poder</i>	56
6.2.4 <i>Logística do acompanhamento de 2012-2013</i>	57
6.2.5 <i>Desfecho: interleucina-6</i>	59
6.2.6 <i>Exposição: consumo alimentar</i>	60

6.2.7 Exposições demográficas, socioeconômicas, comportamentais, composição corporal e escore de risco poligênico	62
6.2.8 Plano de análise do artigo 2	66
6.2.9 Plano de análise do artigo 3	67
6.2.10 Aspectos éticos	70
6.3 Financiamento	70
6.4 Cronograma	71
6.5 Divulgação dos resultados	71
7. REFERÊNCIAS	72
SEÇÃO II. MODIFICAÇÕES DO PROJETO PÓS BANCA DE QUALIFICAÇÃO	86
SEÇÃO III. RELATÓRIO DE TRABALHO DE CAMPO	89
SEÇÃO IV. ARTIGOS	99
Artigo de revisão	100
Artigo original 1	135
Artigo original 2	166
SEÇÃO V. CONCLUSÃO DA TESE	206
SEÇÃO VI. NOTA À IMPRENSA	208
APÊNDICES	210

Apresentação

Esta tese foi elaborada de acordo com as normas regimentais do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia (PPGEpi) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), como requisito para a conclusão do curso de Doutorado em Epidemiologia da discente Francine Silva dos Santos, sob orientação da Professora Doutora Denise Petrucci Gigante e coorientação das Professoras Doutoras Gicele Costa Mintem e Isabel Oliveira de Oliveira. No período de doutorado sanduíche no Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto – Portugal a discente foi supervisionada pelo Professora Doutora Carla Lopes.

Seis seções compõem este volume: (i) projeto de pesquisa qualificado em setembro de 2018; (ii) seção sobre modificações realizadas na versão aprovada do projeto após a banca de qualificação; (iii) descrição da experiência de trabalho de campo, desenvolvido junto ao Laboratório de Análises Biológicas do Centro de Pesquisas Epidemiológicas (UFPel), para construção do banco de dados da concentração sérica de interleucina-6 na Coorte de Nascimentos de 1982 aos 30 anos de idade, biomarcador de interesse da presente tese; (iv) sequência dos três artigos produzidos ao longo do curso de doutorado; (v) conclusão da tese; e (vi) nota à imprensa com os principais resultados da tese.

Os três artigos que constituem esta tese estão descritos a seguir, assim como os seus objetivos. Os artigos foram formatados de acordo com as instruções de cada revista considerada para a submissão/publicação.

Artigo de revisão – **“Processamento de alimentos e fatores de risco cardiometabólicos: revisão sistemática”**, publicado na Revista de Saúde Pública em julho de 2020. Este estudo teve por objetivo realizar uma revisão sistemática sobre o consumo de alimentos de acordo com o processamento e identificar a associação com fatores cardiometabólicos em adultos e idosos.

Artigo original 1 – ***“Epidemiology of interleukin-6: the 30-year follow-up of the 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study”***, aceito para publicação na revista *Annals of Human Biology*. O objetivo deste estudo foi investigar fatores do início da vida até a idade adulta, associados com a concentração sérica de interleucina-6 aos 30 anos de idade.

Artigo original 2 – ***“Consumption of ultra-processed foods and interleukin-6 in two cohorts from high- and middle-income countries”***, formatado de acordo com as normas para submissão ao periódico *The Journal of Nutrition*. Este estudo teve por objetivo avaliar

longitudinalmente a associação entre consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica, e investigar o papel mediador da adiposidade.

SEÇÃO I. PROJETO DE PESQUISA

Projeto de pesquisa qualificado em setembro de 2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Faculdade de Medicina

Departamento de Medicina Social

Programa de Pós-graduação em Epidemiologia

PROJETO DE PESQUISA

**Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica em adultos
pertencentes à Coorte de Nascimentos de 1982 – Pelotas/RS**

Francine Silva dos Santos

Pelotas, 2018

Francine Silva dos Santos

**Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica em adultos
pertencentes à Coorte de Nascimentos de 1982 – Pelotas/RS**

Projeto de pesquisa apresentado ao
Programa de Pós-graduação em
Epidemiologia da Universidade
Federal de Pelotas, como requisito
para qualificação de doutorado.

Orientadora: Prof^ª Dr^a Denise Petrucci Gigante

Coorientadoras: Prof^ª Dr^a Gicele Costa Mintem e Prof^ª Dr^a Isabel Oliveira de Oliveira

Pelotas, 2018

Francine Silva dos Santos

**Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica em adultos
pertencentes à Coorte de Nascimentos de 1982 – Pelotas/RS**

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Denise Petrucci Gigante (presidente)

Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Carlos Augusto Monteiro (examinador)

Universidade de São Paulo

Prof^ª. Dr^ª. Luciana Tovo Rodrigues (examinadora)

Universidade Federal de Pelotas

Pelotas, 2018

RESUMO

SANTOS, Francine Silva. **Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica em adultos pertencentes à Coorte de Nascimentos de 1982 – Pelotas/RS**. Orientadora: Denise Petrucci Gigante. 2018. Projeto (Tese de Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

O consumo de alimentos que recebem processamento industrial tem aumentado progressivamente, especialmente nos países de baixa e média renda, incluindo o Brasil. Neste panorama uma classificação de alimentos denominada NOVA destaca-se no cenário nacional e internacional em estudos epidemiológicos, na saúde pública e nas recomendações de alimentação e nutrição para a população. Dentre as quatro categorias de gêneros alimentícios apresentados pela NOVA, os alimentos ultraprocessados são aqueles que em pesquisas recentes estão associados com risco cardiometabólico, destacando-se sobrepeso/obesidade. Em paralelo, a interleucina-6, uma citocina com atividade biológica que não se restringe ao sistema imune, é reportada na literatura pelo seu proeminente papel em diversos processos metabólicos. As concentrações séricas dessa citocina mostram relação proporcional com medidas de adiposidade e com aumento do risco para doenças cardiovasculares, as quais são a principal causa de morbimortalidade no mundo, com impacto mais proeminente nos países de baixa e média renda. Tendo em vista os diversos estudos que demonstram a repercussão da alimentação sobre as concentrações séricas da interleucina-6, o presente projeto tem como objetivo identificar o possível mecanismo da relação entre o consumo de alimentos ultraprocessados e a inflamação crônica, medida pela concentração sérica da citocina aos 30 anos de idade. Com dados da Coorte de Nascimentos de 1982, da cidade de Pelotas – RS, essa associação será avaliada por análise longitudinal. Ademais, serão investigados outros fatores de risco para as enfermidades cardiovasculares que possam influenciar as concentrações de interleucina-6 e, em especial, aqueles passíveis de modificação. Por fim, visando compreender o conhecimento atual sobre consumo de alimentos de acordo com o grau de processamento e desordens metabólicas de risco cardiovascular em adultos, será realizada uma revisão sistemática da literatura.

Palavras-chave: interleucina-6; consumo de alimentos; alimentos industrializados; doenças cardiovasculares; adulto; epidemiologia.

ABSTRACT

SANTOS, Francine Silva. **Consumption of ultra-processed foods and serum interleukin-6 in adults belonging to the 1982 Birth Cohort – Pelotas/RS**. Advisor: Denise Petrucci Gigante. 2018. Project (Ph.D. Thesis in Epidemiology) – Postgraduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Consumption of processed industrial foods has increased steadily, especially in low and middle-income countries including Brazil. In this panorama, a classification of foods denominated NOVA stands out in national and international scenario in epidemiological studies, in public health and in recommendations of feeding, and nutrition for population. Among the four categories of foods presented by NOVA, ultra-processed foods are those that in recent research are associated with cardiometabolic risk especially overweight/obesity. In parallel, interleukin-6, a cytokine with biological activity that is not restricted to the immune system, is reported in the literature for its prominent role in several metabolic processes. Serum concentrations of this cytokine show a proportional relationship with adiposity and increased risk for cardiovascular diseases which are the main cause of morbidity and mortality in the world, with a more prominent impact in low and middle-income countries. The present project aims to identify the possible mechanism of the relationship between the consumption of ultra-processed foods and chronic inflammation measured by the serum concentration of interleukin-6 at 30 years of age. With data of 1982 Birth Cohort, from the city of Pelotas – RS, this association will be evaluated longitudinally. In addition, will be investigated other risk factors for cardiovascular diseases that may influence the concentrations of interleukin-6, and especially those that can be modified. Finally, aiming to understand the current knowledge about food consumption according to the degree of processing and metabolic disorders of cardiovascular risk in adults, a systematic review of the literature will be carried out.

Keywords: interleukin-6; food consumption; industrialized foods; cardiovascular diseases; adult; epidemiology.

ARTIGOS PROPOSTOS

As três propostas de artigos planejados para compor essa tese como requisitos do curso de doutorado em epidemiologia são:

Artigo 1 – Sistemas de classificação dos alimentos baseados no processamento e suas relações com os principais fatores metabólicos de risco para doenças cardiovasculares em adultos: uma revisão sistemática.

Artigo 2 – Epidemiologia da interleucina-6 em adultos nascidos na cidade de Pelotas no ano de 1982.

Artigo 3 – Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica aos 30 anos em uma coorte de nascimentos na cidade de Pelotas – RS.

1. INTRODUÇÃO

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) são um problema de saúde pública global e impactam no desenvolvimento econômico e social (WHO, 2013). Nesse sentido, as doenças cardiovasculares (DCV) constituem o principal grupo de DCNT, contabilizando cerca de 18 milhões de óbitos em 2015 (ROTH *et al.*, 2017), dos quais aproximadamente três quartos ocorreram em países de baixa e média renda (WHO, 2016). O Brasil também enfrenta o desafio de controlar a morbimortalidade decorrente das DCV e seus fatores de risco (BRASIL, 2011; RIBEIRO *et al.*, 2016), que segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2013; 2018) são determinadas por fatores sociais, comportamentais (alimentação não saudável, tabagismo, inatividade física e uso abusivo de álcool) e metabólicos (elevada pressão sanguínea, obesidade, diabetes e dislipidemias).

A alimentação adequada e saudável de uma população envolve os aspectos biológicos e a ingestão de nutrientes, além de questões ambientais, sociais, demográficas e econômicas (POPKIN, 1998; LOCK *et al.*, 2010; BRASIL, 2014). No entanto, as recomendações nutricionais e de saúde tradicionais costumam ser direcionadas aos nutrientes ou grupos de alimentos conforme propriedades botânicas ou espécie animal (MONTEIRO *et al.*, 2018^a), como pode ser observado na primeira publicação do Guia Alimentar para a População Brasileira (BRASIL, 2006). Nessa configuração, o alimento é considerado apenas como um conjunto de nutrientes, sendo negligenciado o papel do processamento industrial moderno e seu impacto sobre o consumo alimentar (MONTEIRO *et al.*, 2013).

De forma mais recente, tem sido discutida a necessidade de considerar o processamento dos alimentos na avaliação do consumo alimentar em estudos epidemiológicos (MOUBARAC *et al.*, 2014; FARDET *et al.*, 2015). Nesse panorama, a classificação denominada NOVA (MONTEIRO *et al.*, 2016) dispõe os alimentos em grupos de acordo com a natureza, extensão e propósito do processamento industrial a que são submetidos (MONTEIRO *et al.*, 2018^a), destacando-se internacionalmente por sua validade no campo da saúde pública e da epidemiologia nutricional (MOUBARAC *et al.*, 2014; FAO, 2015; PAHO/WHO, 2015; MONTEIRO *et al.*, 2018^a). Essa classificação agrega os alimentos em grupos com características similares quanto à qualidade nutricional e ao potencial efeito à saúde, além de considerar predicados nutricionais e não nutricionais dos mesmos que podem repercutir na saúde dos indivíduos (JUUL *et al.*, 2018).

Ainda sobre a classificação, estudos com indivíduos em diversas faixas etárias reportam associação entre o consumo dos alimentos que receberam processamento industrial e desfechos, tais como obesidade (POTI *et al.*, 2017), gordura corporal (COSTA *et al.*, 2018), síndrome metabólica (TAVARES *et al.*, 2012), câncer de mama e câncer em geral (FIOLET *et al.*, 2018), síndrome do intestino irritável (SCHNABEL *et al.*, 2018), hipertensão (MENDONÇA *et al.*, 2017), além do impacto na mortalidade por DCV (MOREIRA *et al.*, 2015; MOREIRA *et al.*, 2018). No Brasil, os alimentos ultraprocessados representam 20,4% da ingestão energética média *per capita* (LOUZADA *et al.*, 2018). Em Pelotas, através do Estudo da Coorte de Nascimentos de 1982 realizado aos 23 anos, mais da metade do consumo calórico diário médio foi atribuído a esses alimentos (BIELEMANN *et al.*, 2015). Nessa mesma coorte, o padrão de alimentos processados identificado por análise de componentes principais esteve positivamente associado com fatores de risco cardiovascular em homens (OLINTO *et al.*, 2012).

O intuito principal do presente projeto é verificar a relação entre o consumo de alimentos de acordo com o processamento e a interleucina-6 (IL-6) que se fundamenta nas evidências de que uma alimentação de baixa qualidade promove aumento nas concentrações séricas de diversos biomarcadores inflamatórios, dentre esses o aumento da citocina de interesse (BARBARESKO *et al.*, 2013; SMIDOWICZ; REGULA, 2015).

A IL-6 apresenta distintas atividades biológicas, as quais não se restringem apenas ao sistema imunológico (KAMIMURA *et al.*, 2003), sendo assim, alterações de sua regulação e síntese persistente (processo inflamatório crônico) são relacionadas às desordens metabólicas que configuram risco para DCV (HAJER *et al.*, 2008; MORIERI *et al.*, 2017). Cabe salientar que características socioeconômicas desfavoráveis repercutem em concentrações mais elevadas dessa citocina (LOUCKS *et al.*, 2010; MEDENWALD *et al.*, 2015), além de sua associação com atributos comportamentais como tabagismo (AL RIFAI *et al.*, 2017), consumo abusivo de bebidas alcoólicas (ZAGO *et al.*, 2016) e exercício físico (LI *et al.*, 2017). Sendo assim, o presente projeto também se propõe a investigar a repercussão de variáveis demográficas, socioeconômicas do início da vida e variáveis comportamentais e de composição corporal da vida adulta, como possíveis fatores de risco para DCV, sobre as concentrações séricas de IL-6 aos 30 anos de idade.

2. MARCO TEÓRICO

Este marco teórico está estruturado em três seções, sendo as duas iniciais construídas por meio de uma revisão não sistemática da literatura, com o intuito de compreender conceitos fundamentais envolvidos nesse projeto de pesquisa, os quais abrangem o consumo alimentar em relação ao processamento de alimentos e a IL-6. A primeira seção apresenta a relevância de avaliar o consumo alimentar no âmbito da epidemiologia nutricional considerando uma classificação com base no processamento, bem como os instrumentos utilizados, com destaque para o questionário de frequência alimentar (QFA). Na sequência, são elucidadas as características da IL-6 facilitando a compreensão da sua atividade biológica, com abordagem na propriedade pró-inflamatória e apresentação de evidências sobre a referida citocina relacionada com fatores de risco comportamentais e metabólicos para DCV em indivíduos na idade adulta. Ao final, é apresentada uma discussão que inter-relaciona os tópicos abordados anteriormente mediante revisão sistemática da literatura e apresentação do modelo conceitual.

2.1 Consumo alimentar: métodos de avaliação e classificação tradicional dos alimentos

A alimentação é um dos fatores determinantes e condicionantes para a saúde de um indivíduo (BRASIL, 1990), sendo considerada um direito humano fundamental, contemplada no artigo XXV da Declaração Universal de Direitos Humanos (ONU, 1948). Nessa conjuntura, o consumo alimentar é um dos principais responsáveis pelo estado nutricional e está relacionado à saúde em todas as fases do ciclo vital.

O consumo alimentar pode ser compreendido como a maneira pela qual os indivíduos ingerem alimentos cotidianamente, influenciado por fatores fisiológicos, psicológicos, culturais, socioeconômicos e ambientais (MAJEM; VILLEGAS, 2006; PEREIRA; SCHIERI, 2007). Os monitoramentos das práticas de consumo contribuem para o diagnóstico da situação alimentar e nutricional e fornecem subsídios para o planejamento e a organização dos serviços de saúde e a formulação de políticas e ações no âmbito da saúde pública, os quais têm por finalidade promover a melhoria do perfil alimentar e nutricional da população (MAJEM; VILLEGAS, 2006; BRASIL, 2015). Em estudos epidemiológicos, as estratégias mais utilizadas para extrair essa informação são: métodos para avaliação de dados agregados (folha de balanço de alimentos, inventário e pesquisas de orçamento familiar) e

métodos para avaliação de dados agregados e individuais (registro ou diário alimentar, métodos recordatórios e QFA, com a ressalva de que um único registro ou recordatório é considerado adequado somente para dados agregados) (PEREIRA; SCHIERI, 2007).

O QFA consiste na avaliação do hábito alimentar durante determinado período de tempo no passado recente ou remoto, como semanas, meses ou anos (PEREIRA; SCHIERI, 2007). Esse instrumento é constituído por dois componentes, a lista de alimentos e a frequência de consumo, podendo ser incluídas questões sobre quantidades e composição (WILLETT, 2008), nesse sentido o mesmo pode ser classificado em três diferentes tipos de acordo com o Paine 1.

Paine 1: Descrição dos tipos de QFA

Qualitativo: informação de alimentos consumidos sem incluir dados de quantidades.

Semiquantitativo: especificação de uma porção média de referência como parte da questão de frequência, para cada item alimentar.

Quantitativo: descrição de uma porção usual de consumo de cada item da lista, por questão aberta para quantidades ou apresentação de uma porção média, o respondente deve estimar se consome uma porção menor, igual ou maior em relação a apresentada.

Fonte: PEREIRA; SCHIERI, 2007; WILLETT, 2008.

Esse método (QFA), permite extrair dados do consumo de alimentos e tem como vantagens poder aferir a intensidade da exposição classificando os indivíduos em categorias de consumo, praticidade na obtenção e análise dos dados, baixo custo, economia de tempo e não resulta em alteração da ingestão alimentar dos indivíduos por ser um procedimento retrospectivo. Em contrapartida é dependente da memória do respondente, há dificuldade na precisão da quantidade consumida (PEREIRA; SCHIERI, 2007) e seu potencial para fornecer informações sobre processamento depende do nível de detalhamento da lista de alimentos (FAO, 2015).

Destaca-se ainda que a utilização dos instrumentos anteriormente citados, isoladamente ou em conjunto, permite avaliar a alimentação das populações (SATIJA *et al.*, 2015). Desta forma, a epidemiologia nutricional tradicionalmente dedicou-se ao estudo de

nutrientes ou determinados alimentos sobre desfechos em saúde (OLINTO, 2007), algo compreensível e fundamental, quando as carências nutricionais específicas configuravam como importante preocupação no âmbito da saúde pública, até o início do século XX (MONTEIRO *et al.*, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2013). Ainda nesse contexto, cabe salientar que a classificação tradicional de alimentos agrupa os alimentos e gêneros alimentícios em relação a sua origem botânica ou espécie animal, em conformidade com os nutrientes presentes nos mesmos e, assim, se agregam alimentos com diferentes efeitos sobre a saúde no mesmo grupo (MONTEIRO *et al.*, 2018^a). Adicionalmente, uma das principais limitações dessa abordagem, se deve ao fato dos alimentos serem constituídos por uma complexidade de características químicas que interagem entre si, sendo assim, não é possível prever com exatidão os efeitos para saúde com base no conteúdo de um fator específico (WILLET, 2008).

Considerando o panorama epidemiológico atual, no qual as DCV são a maior causa de mortalidade prematura e morbidade crônica (estimativa mundial de 422,7 milhões de casos), representando cerca de um terço de todos os óbitos em 2015 (ROTH *et al.*, 2017), e a alimentação inadequada designada como um importante fator de risco modificável para a prevenção dessas enfermidades (WHO, 2003; 2013; 2018), é de suma importância a investigação do consumo alimentar. Paralelamente houve mudanças nos hábitos alimentares em nível global, primeiramente nos países desenvolvidos, mas também naqueles de baixa e média renda (WHO, 2003), caracterizadas pelo domínio de produtos processados da indústria alimentícia (MOODIE *et al.*, 2013).

Essas mudanças não foram acompanhadas por modificação na forma de classificação dos alimentos, permanecendo a mesma desde o século XX (MONTEIRO *et al.*, 2012), o que enfatiza a necessidade da epidemiologia nutricional também considerar uma classificação de alimentos que compreenda o processamento industrial (MOUBARAC *et al.*, 2014; FARDET *et al.*, 2015). Assim desde 2015, foi preconizada em publicação do Ministério da Saúde brasileiro a orientação sobre a avaliação do consumo de alimentos ultraprocessados dentre os marcadores que avaliam o consumo alimentar na atenção básica (BRASIL, 2015).

2.1.1 Processamento de alimentos e a classificação NOVA

O processamento está presente na história da humanidade, primeiramente por métodos anteriores à industrialização, como a utilização do fogo, ar e sal com o intuito de preparar, cozinhar e/ou conservar os alimentos, até o advento da Revolução Industrial, em meados do século XIX. Nessa época, principalmente na Europa e Estados Unidos, com a produção em massa, o consumo de alimentos processados aumentou rapidamente. Mais recentemente, a globalização econômica contribuiu para a expansão desses alimentos também em países de renda média ou baixa e, ainda, os avanços da tecnologia permitiram a produção de um extenso número de alimentos prontos para o consumo, hiperpalatáveis e produzidos com base em ingredientes de baixo custo e substâncias sintéticas (MONTEIRO *et al.*, 2013; MOUBARAC *et al.*, 2014; MONTEIRO *et al.*, 2018^a).

Conforme o exposto, parece razoável supor que os alimentos não devem ser classificados como saudáveis ou não saudáveis apenas pelo processamento, pois muitos tipos são essenciais, benéficos ou inofensivos, enquanto outros podem ser prejudiciais para a saúde humana (PAHO/WHO, 2015). Com essa finalidade surgiram algumas classificações com base no processamento (MOUBARAC *et al.*, 2014; SARTORI; SILVA, 2014^a; b; POTI *et al.*, 2015; 2016). Dentre essas se destaca a proposta por um grupo de pesquisadores brasileiros, baseada na extensão e propósito do processamento industrial, mais do que em termos de nutrientes, denominada NOVA (MONTEIRO *et al.*, 2010) e recentemente atualizada (MONTEIRO *et al.*, 2016).

A classificação NOVA foi considerada por MOUBARAC e colaboradores (2014) como a mais adequada segundo critérios de especificidade, coerência, clareza, abrangência e exequível para utilização em estudos epidemiológicos, após revisão de cinco sistemas de classificação de alimentos baseados no processamento (MOUBARAC *et al.*, 2014) sendo também reconhecida por instituições internacionais como um instrumento válido para saúde pública e pesquisas nutricionais (FAO, 2015; PAHO, 2015). A mesma subsidiou a elaboração do mais recente Guia Alimentar para População Brasileira e ampliou a visão da alimentação para além da ingestão de nutrientes ao incorporar, em seu conteúdo e recomendações, a relação da alimentação com fatores sociais, culturais, econômicos e ambientais (BRASIL, 2014). Ademais, essa compõe o escopo de recente publicação governamental sobre

alimentação cardioprotetora direcionada à atenção básica (BRASIL, 2018). O Paine 2 apresenta os grupos e exemplos de alimentos que compreendem a NOVA.

Painel 2: Classificação NOVA

Grupo 1. Alimentos não processados (*in natura*) ou minimamente processados: compreende os alimentos com partes comestíveis após a separação da natureza (*in natura*) e os minimamente processados, que recebem algum método químico ou físico, sem incluir a adição de sal, açúcar, óleos, gorduras e outras substâncias.

Exemplos: hortaliças; frutas *in natura*, secas ou desidratadas; sucos de frutas *in natura* e pasteurizados sem adição de açúcar, outras substâncias e/ou aditivos; raízes e tubérculos; cereais; leguminosas; cogumelos frescos ou secos; oleaginosas sem sal ou açúcar; especiarias e ervas frescas ou secas; farinhas; macarrão ou massas frescas ou secas feitas com essas farinhas e água; carnes, aves, pescados e frutos do mar; leite pasteurizado ou em pó; iogurte (sem adição de açúcar ou outra substância); ovos; chá, café e água potável.

Grupo 2. Ingredientes culinários processados: inclui produtos tais como, sal, açúcar, óleos, gorduras e outras substâncias provenientes de alimentos anteriormente referidos ou da natureza, utilizados nas preparações culinárias dos pertencentes ao primeiro grupo e raramente consumidos na ausência dos mesmos.

Exemplos: sal, açúcar, melado, mel, óleos e gorduras extraídos de alimentos de origem vegetal ou animal (como óleo de soja ou de oliva, manteiga, creme de leite e banha) e vinagre.

Grupo 3. Alimentos processados: consiste em produtos prontos para o consumo, elaborados pela combinação de gêneros dos dois grupos anteriores com a finalidade de aumentar a durabilidade e melhorar as características sensoriais.

Exemplos: conservas de hortaliças, cereais ou leguminosas, oleaginosas adicionadas de sal ou açúcar, carnes salgadas (carne seca), peixe conservado em óleo ou água e sal, frutas em calda, queijos, pães e bebidas obtidas da fermentação alcoólica de alimentos do primeiro grupo (vinho, cerveja e cidra).

Fonte: PAHO/WHO, 2015; MONTEIRO *et al.*, 2016; 2018^a – continua

Painel 2: Classificação NOVA

Grupo 4: Alimentos ultraprocessados: formulações industriais prontas ou semiprontas para serem ingeridas, usualmente com diversos ingredientes, os quais são derivados de alimentos ou sintéticos, utilizados geralmente apenas pela indústria e que modificam as propriedades sensoriais. Nesses gêneros alimentícios há irrisória quantidade ou nem mesmo existe a presença de produtos *in natura* ou minimamente processados e, em geral, são hiperpalatáveis. Apresentam embalagens sofisticadas e atrativas, publicidade agressiva, inclusive com alegações à saúde, são altamente lucrativos e controlados por corporações transnacionais, além de causarem prejuízo ambiental, econômico, social e cultural.

Exemplos: refrigerantes e pós para refrescos; salgadinhos de pacote; sorvetes, chocolates, balas e guloseimas em geral; pães de forma, de hot-dog ou de hambúrguer; pães doces, biscoitos, bolos e misturas para bolo; cereais matinais e barras de cereal; bebidas energéticas, achocolatados e bebidas com sabor de frutas; caldos liofilizados com sabores diversos; maioneses e outros molhos prontos; fórmulas infantis; produtos congelados prontos para aquecer (como tortas, pizzas pré-preparadas, empanados tipo *nuggets*, salsicha, hambúrguer e outros produtos de carne reconstituída, sopas, macarrão e sobremesas instantâneos) e bebidas alcoólicas destiladas (como cachaça, uísque, vodca e rum).

Fonte: PAHO/WHO, 2015; MONTEIRO *et al.*, 2016; 2018^a

2.1.1.1 Classificação NOVA: evidências de estudos epidemiológicos

Estudos observaram mudança temporal positiva na aquisição de alimentos ultraprocessados em 79 países de média e alta renda (MONTEIRO *et al.*, 2013), 13 países da América Latina (PAHO/WHO, 2015) e inclusive no Brasil (MONTEIRO *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2013). Paralelamente, pesquisas verificaram elevado consumo de ultraprocessados, como no Estudo da Coorte de Nascimentos de 1982, no qual 51,2% (IC95% 50,8; 51,6) das calorias totais ingeridas pelos participantes, aos 23 anos, eram provenientes de alimentos desse grupo (BIELEMANN *et al.*, 2015). A ingestão elevada, reportada em recentes publicações, indica uma alimentação com baixa qualidade nutricional, caracterizada

por maiores concentrações de sódio, açúcar, gorduras totais e saturadas, reduzido teor de fibras e proteínas, altamente energéticas (MOUBARAC *et al.*, 2017; MARTINEZ STEELE *et al.*, 2018; RAUBER *et al.*, 2018) e com maior índice glicêmico (FARDET, 2016).

Questionamentos referentes à utilização da NOVA em investigações epidemiológicas, bem como nas recomendações para a saúde pública, foram realizados por autores que declararam conflito de interesse com a indústria alimentícia (GIBNEY *et al.*, 2017). Além disso, os argumentos apresentados por esses autores foram refutados pelos proponentes da classificação NOVA (MONTEIRO *et al.*, 2018b). Corroboram com Monteiro e colaboradores (2018b), as robustas evidências da associação entre o consumo de alimentos ultraprocessados e os principais fatores de risco cardiometabólicos, como sobrepeso e obesidade (CANELLA *et al.*, 2014; BIELEMANN *et al.*, 2015; MENDONÇA *et al.*, 2016; DA SILVEIRA *et al.*, 2017; JULIA *et al.*, 2018; JUUL *et al.*, 2018; MONTEIRO *et al.*, 2018c; SILVA *et al.*, 2018), a incidência de hipertensão arterial sistêmica (MENDONÇA *et al.*, 2017), o perfil lipídico em crianças (RAUBER *et al.*, 2015) e a síndrome metabólica em adolescentes (TAVARES *et al.*, 2012). Inclusive, o padrão de alimentos minimamente processados/processados mostrou associação inversa com síndrome metabólica em adultos (NASREDDINE *et al.*, 2018). Um cenário ideal em uma simulação com diminuição de 50% de gordura saturada, gordura *trans*, sal e açúcar dos alimentos ultraprocessados, contenção dos ingredientes culinários processados e aumento da contribuição energética dos alimentos *in natura* ou minimamente processados poderá ser capaz de evitar aproximadamente 44.190 óbitos (11% de redução da mortalidade) relacionados às DCV no Brasil, em 2030 (MOREIRA *et al.*, 2018).

2.2 Interleucina-6: breve histórico e contextualização

O processo de inflamação compreende um mecanismo de defesa do organismo em reação a uma infecção e outras injúrias, o qual tem por objetivo restaurar a homeostase fisiológica (CALDER *et al.*, 2011), e é classificado em agudo e crônico. O primeiro pode se desenvolver em minutos a horas e ter duração de dias. Nessa reação os neutrófilos são o tipo celular mais abundante, mas monócitos sanguíneos, que se diferenciam em macrófagos nos tecidos, também têm atividade importante ao longo do tempo. Nas situações em que o agente infeccioso ou a lesão tecidual persistem, ocorre a inflamação crônica com duração de semanas

e meses, que em geral, envolve o recrutamento e ativação de monócitos e linfócitos (ABBAS *et al.*, 2015). Uma inflamação crônica de baixa intensidade é compreendida no desenvolvimento de diversas enfermidades não transmissíveis, dentre essas obesidade, *diabetes mellitus* e DCV (GERALDO; ALFENAS, 2008).

Citocina é a denominação geral de um grupo de proteínas com distintas estruturas e funções, as quais são fundamentais no processo de inflamação, regulando e coordenando as atividades das células do sistema imunológico e exercendo respostas anti e pró-inflamatórias (ZHANG; AN, 2007; ABBAS *et al.*, 2015), e sendo também capazes de cumprir funções regulatórias externas a esse sistema (SCHAPER; ROSE-JOHN, 2015). Todas as células imunes secretam, pelo menos, algumas citocinas (ALPERS *et al.*, 2014), que podem apresentar ação autócrina, parácrina e endócrina (ZHANG; AN, 2007).

A IL-6 é uma citocina que foi descrita pela primeira vez no ano de 1980 e recebeu a nomenclatura de IF- β 2 (*interferon β 2*) (WEISSENBAACH *et al.*, 1980). Posteriormente, uma variedade de outros nomes foram designados para essa mesma proteína, tais como, BSF-2 (*B-cell stimulatory fator 2*), HGF (*hybridoma growth fator*) e HSF (*hepatocyte-stimulating fator*) (VAN SNICK, 1990; KAMIMURA *et al.*, 2003) até o ano de 1986, quando o gene codificante de BSF-2 foi clonado (HIRANO *et al.*, 1986). Na sequência, pesquisas sobre a estrutura das moléculas citadas, HSF, HGF e IF- β 2, culminaram na descoberta que todas são idênticas (KAMIMURA *et al.*, 2003) e, assim em 1989, se tornaram conhecidas como IL-6 (KISHIMOTO, 1989).

Essa citocina é codificada por um gene, denominado *IL6*, mapeado no cromossomo 7p15.3 (SWERDLOW *et al.*, 2012) e como produto da transcrição se tem uma proteína constituída por 212 aminoácidos (21 a 28 kDa) (VAN SNICK, 1990), com uma estrutura de quatro hélices e três sítios de ligação ao receptor. O sítio I, se comunica com o receptor de IL-6 (IL-6R α) e os sítios II e III se ligam à glicoproteína 130 (gp130), para gerar um sinal de transdução (HEINRICH *et al.*, 2003; SCHELLER *et al.*, 2011) (Figura 1).

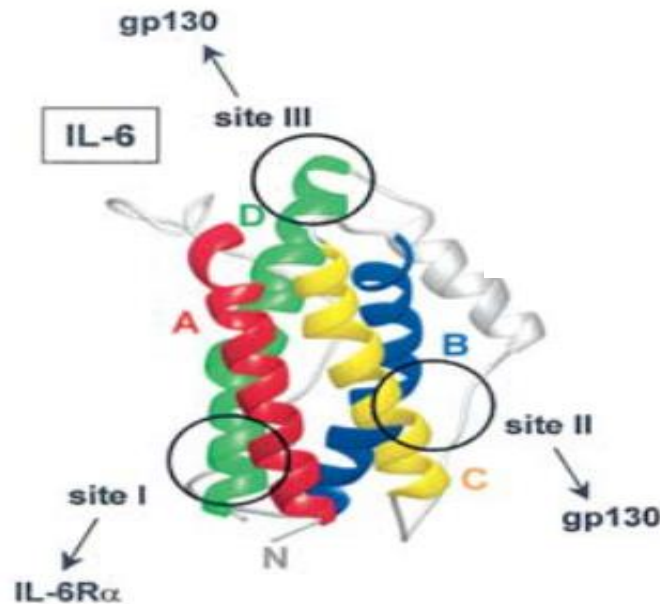


Figura 1: Estrutura da IL-6 e seus sítios de ligação ao receptor e a glicoproteína 130.
Fonte: adaptado HEINRICH *et al.*, 2003.

2.2.1 Síntese e vias de sinalização da interleucina-6

A expressão de IL-6 é induzida por uma série de estímulos fisiológicos ou patológicos, tais como infecções bacterianas e virais, outras citocinas, com destaque para fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 (IL-1) e danos teciduais (VAN SNICK, 1990; BARAN *et al.*, 2018), enquanto estrogênios e androgênios são conhecidos por reprimir sua expressão (KAMIMURA *et al.*, 2003). Em uma condição saudável, a concentração sérica da citocina alcança valores de 1 pg/mL (QU *et al.*, 2014), sendo que alguns autores consideram adequados valores inferiores a 3-4 pg/mL (EDER *et al.*, 2009; MCDADE *et al.*, 2011; TANAKA *et al.*, 2017).

A maior produção celular dessa citocina é realizada por monócitos/macrófagos, desencadeando uma resposta imunológica de fase aguda (TANAKA *et al.*, 2016). Entretanto, inúmeros tipos celulares sintetizam-na, incluindo outras células do sistema imunológico, endoteliais, esqueléticas e musculares lisas, da tireoide, fibroblastos, mesangiais, queratinócitos, micróglias e astrócitos, certas células tumorais e células β das ilhotas pancreáticas (KAMIMURA *et al.*, 2003). O tecido adiposo também é fonte de IL-6 (MOHAMED-ALI *et al.*, 1997; EDER *et al.*, 2009; CALDER *et al.*, 2011), sendo estimado que cerca de 15 a 35% das concentrações circulantes totais têm origem nesse tecido

(MOHAMED-ALI *et al.*, 1997) e, por isso, também é denotada como uma adipocitocina (HAJER *et al.*, 2008).

A IL-6 apresenta diversas funções biológicas, atuando nas atividades do sistema imunológico, hematopoese, metabolismo, assim como, na patogênese de doenças metabólicas e cardiovasculares (QU *et al.*, 2014; CRON *et al.*, 2016). Existem duas vias de sinalização pelas quais exerce seus efeitos biológicos pró e anti-inflamatórios (SCHAPER; ROSE-JOHN, 2015), sendo essas vias mediadas através de dois receptores, um receptor de membrana (IL-6R) e um receptor solúvel (sIL-6R) (HEINRICH *et al.*, 2003; SCHELLER *et al.*, 2006; SCHAPER; ROSE-JOHN, 2015). O primeiro é expresso em uma limitada quantidade de células como hepatócitos, leucócitos (monócitos, macrófagos e certos tipos de células T) (SCHELLER *et al.*, 2006) e células das ilhotas pancreáticas (ELLINGSGAARD *et al.*, 2008), enquanto o segundo, está presente no soro humano (BARAN *et al.*, 2018).

De acordo com a Figura 2, a sinalização clássica é caracterizada pela ligação da citocina ao IL-6R induzindo à formação de homodímeros da gp130 ligada à membrana e desencadeando efeitos intracelulares *downstream*. Na via de transsinalização, essa citocina acopla-se ao sIL-6R, formando um heterodímero IL-6/sIL-6R, que gera um sinal de transdução a partir da ligação direta com a proteína transmembrana gp130. A forma solúvel da gp130 (sgp130), que se liga com alta afinidade ao complexo IL-6/sIL-6R pode inibir a via de transsinalização, sem contudo apresentar efeito na sinalização clássica (SCHAPER; ROSE-JOHN, 2015; MORIERI *et al.*, 2017). É possível ainda que a via de transsinalização esclareça a atividade pleiotrópica da IL-6, pela ampla expressão de gp130 em diversas células (TANAKA; KISHIMOTO, 2014).

A ativação dependente de IL-6 da via da Janus quinases (JAK)-STAT (*signal transducer and activator of transcription 3*), da cascata da MAPK (*mitogen activated protein kinase*) e da cascata da PI3K (*phosphatidylinositide-3-kinase*) tem sido extensivamente descrita, embora mais detalhes sobre o *cross-talk* entre esses módulos de sinalização precisem ser detalhados. O primeiro passo enzimático intracelular da transdução do sinal da IL-6 é a ativação das Janus quinases, as quais são constitutivamente associadas com a cauda citoplasmática da gp130. Essa ativação leva ao recrutamento, pela gp130, de proteínas principalmente da família de transdutores de sinal e ativadores de transcrição (STATs). A via canônica JAK-STAT se caracteriza pela ligação de STAT3 (principalmente), mas também

STAT1, a um dos quatro motivos (*motifs*) de tirosina distais, fosforilação da tirosina nos fatores STAT, homo ou heterodimerização dos STAT1 e/ou STAT3 e subsequente translocação dos dímeros para o núcleo. No núcleo, os dímeros de STAT se ligam a elementos *enhancers* de promotores de genes induzidos por IL-6. A expressão de inúmeros genes responsivos à IL-6, incluindo os que codificam as proteínas de fase aguda da inflamação, como por exemplo a proteína-C reativa (PCR), é induzida pelo fator de transcrição STAT3. Existem também outras quinases ativadas pela IL-6, como as da família Src, as quais foram descritas em células de mieloma múltiplo. As cascatas da MAPK e da PI3K são vias ativadas pela IL-6 independentemente da STAT3, sendo o balanço entre a STAT3 e a MAPK essencial para a homeostase do organismo e controle da proliferação celular. A transdução do sinal da IL-6 pode ser regulada por inibidores de retroalimentação (*suppressor of cytokine signalling* – SOCS) que fazem *feedback* negativo sobre a via de transdução, fosfatases e internalização do receptor. Nesse mecanismo são destacadas duas proteínas, SHP2 (SH2- domínio contendo *protein tyrosine phosphatase-2*) e SOCS3 (*suppressor of cytokine signalling-3*) (TANAKA *et al.*, 2014; SCHAPER; ROSE-JOHN, 2015).

No soro de indivíduos saudáveis há altas concentrações circulantes de sgp130 em complexo com IL-6 e sIL-6R. Contudo, durante condições inflamatórias, as concentrações plasmáticas da citocina excedem os de sgp130, contribuindo para ativação da via de transsinalização (ROSE-JOHN, 2012). De acordo com estudos, em sua maioria conduzidos em animais, acredita-se que a via de sinalização clássica está envolvida com as atividades anti-inflamatórias dessa citocina, relacionadas à regeneração de tecidos e metabolismo de macronutrientes. Por outro lado, a via de transsinalização seria responsável pela propriedade pró-inflamatória da IL-6, referente à inflamação crônica (SCHELLER *et al.*, 2011; MORIERI *et al.*, 2017).

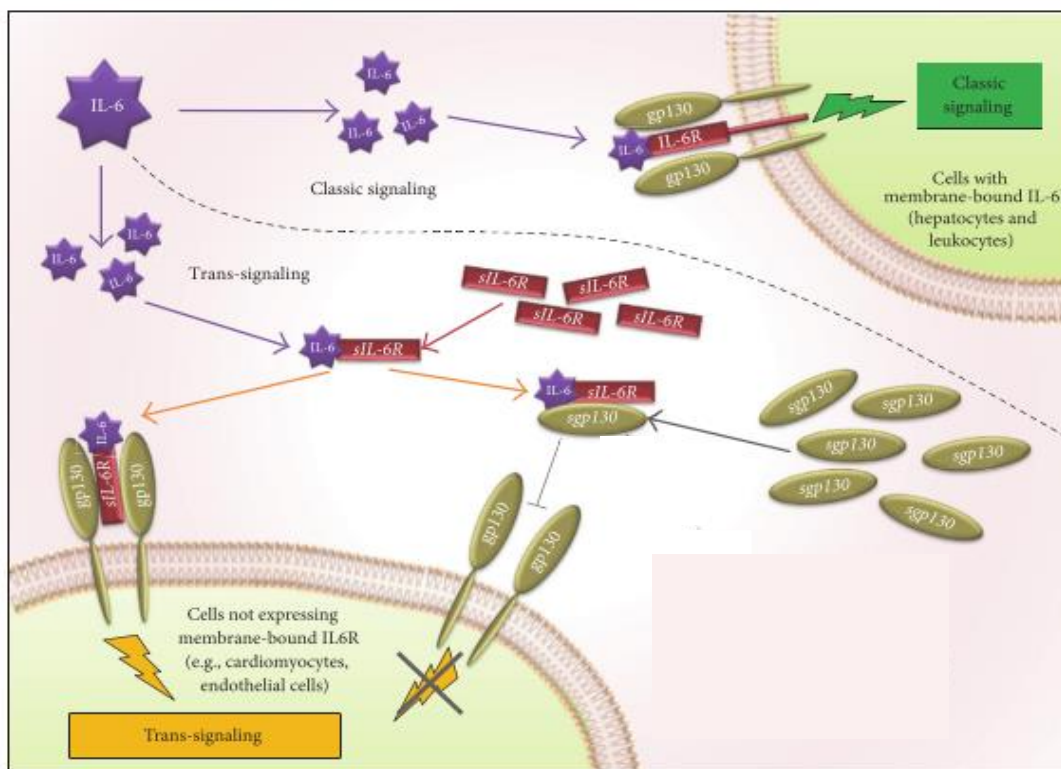


Figura 2: Sinal de transdução da IL-6: via clássica e transsinalização.

Fonte: adaptado MORIERI *et al.*, 2017.

2.2.2 Uma abordagem epidemiológica da interleucina-6 e fatores de risco para doenças cardiovasculares

Estudos de delineamento longitudinal verificaram que os indivíduos com as concentrações séricas mais elevadas de IL-6 têm maior risco de mortalidade por DCV (HARRIS *et al.*, 1999; LEE *et al.*, 2012; SCHNABEL *et al.*, 2013). Além disso, através de uma abordagem de randomização mendeliana, que utiliza variantes genéticas funcionais como *proxy* de exposições, a fim de fortalecer a inferência causal entre uma determinada exposição e desfechos comuns (EBRAHIM; SMITH, 2008), foi constatado que polimorfismos no gene *IL-6R* (rs2228145 e rs7529229) reduzem a chance de eventos cardiovasculares (SARWAR *et al.*, 2012; SWERDLOW *et al.*, 2012).

Destaca-se ainda que as DCV são multifatoriais e características socioeconômicas e comportamentais são comuns tanto na patogênese desse grupo de enfermidades (WHO, 2018), quanto estão relacionados com as concentrações séricas da citocina (YUDKIN *et al.*, 2000; QU *et al.*, 2014). Nesse contexto, uma associação inversa entre posição socioeconômica na idade adulta e IL-6 é evidenciada na literatura (LOUCKS *et al.*, 2006;

MEDENWALD *et al.*, 2015). Resultados similares também foram verificados ao avaliar essa exposição ao longo da vida, constatando que permanecer em uma elevada posição social está relacionado com menores concentrações séricas da citocina (LOUCKS *et al.*, 2010). Em um país de renda média, LIN e colaboradores (2017) não obtiveram resultado estatisticamente significativo para a referida exposição e IL-6, como se constituiu para a PCR. Cabe reforçar que uma das atividades biológicas da IL-6 é estimular a produção de proteínas de fase aguda da inflamação pelos hepatócitos, como a PCR (HEINRICH *et al.*, 1990).

Além disso, a posição socioeconômica na infância e na vida adulta influencia fatores comportamentais de risco para DCV, os quais podem ser mecanismos intermediários que contribuem para alteração nas concentrações de marcadores inflamatórios (LOUCKS *et al.*, 2010). Corroborando com essa hipótese, tem sido relatada a associação entre IL-6 e PCR com tabagismo (BERMUDEZ, 2002; AL RIFAI *et al.*, 2017) e consumo abusivo de álcool (CREWS *et al.*, 2006; ZAGO; PEDROTTI MOREIRA, 2016).

Há evidências que durante o exercício físico, células da musculatura esquelética são capazes de secretar IL-6 em conformidade com a intensidade e duração (LI *et al.*, 2017; HUH, 2018), cujas concentrações tendem a declinar após o término da atividade muscular (STEENSBERG *et al.*, 2001). Em geral, estudos epidemiológicos que avaliaram as concentrações da citocina em relação à atividade física, aferida por diversos questionários que consideraram duração, frequência e intensidade, apresentaram resultados de uma associação inversa (HAMER *et al.*, 2012; JARVIE *et al.*, 2014; SOTOS-PRIETO *et al.*, 2016) ou nula (GOLZARAND *et al.*, 2012), ao ajustar para marcadores de adiposidade.

No escopo dos fatores de risco cardiometabólicos, tem surgido o interesse para o papel da IL-6 sobre o metabolismo, o qual se assemelha a uma ação paradoxal, como reportado em recente revisão de literatura (GHANEMI; ST-AMAND, 2018). Em experimentos com animais, foi demonstrado os efeitos da IL-6 na homeostase da glicose, aumento do gasto energético e supressão do apetite em nível do sistema nervoso central (WALLENIUS *et al.*, 2002; TIMPER *et al.*, 2017), sugerindo que a elevação das concentrações circulantes dessa citocina durante a obesidade seja consequência de um mecanismo adaptativo para estimular a produção de insulina e promover tolerância à glicose (TIMPER *et al.*, 2017), resultado não demonstrado anteriormente por DI GREGORIO e colaboradores (2004). Por outro lado, em humanos, pesquisas reportam que o baixo grau de

inflamação crônica ligado à obesidade confere relação proporcional entre essa enfermidade e IL-6 (SOLA *et al.*, 2009; GOGUET-RUBIO *et al.*, 2017). Na Coorte de 1993 da cidade de Pelotas, análises realizadas aos 18 e 22 anos de idade constataram uma associação positiva entre as concentrações médias da citocina e índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura e percentual de massa gorda (%MG) em ambos os sexos. Em análise longitudinal, ao comparar as mudanças de composição corporal entre os dois acompanhamentos, os participantes que se mantiveram obesos ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) e nos tercis mais elevados de circunferência da cintura e %MG, apresentaram significativamente maiores médias de IL-6 aos 22 anos (MENEZES, 2018). Ademais, concentrações séricas elevadas desta citocina estão associados com *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) conforme descrito em diferentes estudos (PRADHAN *et al.*, 2001; LOWE *et al.*, 2014), assim como, numa meta-análise incluindo dez estudos prospectivos (n=19.709 participantes e 4.480 casos) onde foi reportada uma associação de dose-resposta entre as concentrações de IL-6 e risco de DM2 (risco relativo – RR 1,31; IC95% 1,17; 1,46) (WANG *et al.*, 2013).

No tocante à ação da IL-6 no metabolismo de lipídeos, uma revisão de literatura que explorou as relações entre risco cardiovascular, inflamação e lipídeos séricos em indivíduos com doença inflamatória crônica (CHOY; SATTAR, 2009), reportou aumento das concentrações de colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicerídeos com a utilização de tocilizumabe, um medicamento que competitivamente inibe ambas as vias de sinalização da IL-6. Ao comparar os achados genéticos de genotipagem de polimorfismos com os de ensaios clínicos de indivíduos tratados com o medicamento em questão, foram identificados os mesmos resultados sobre o perfil lipídico decorrentes da utilização de tocilizumabe, não sendo observada qualquer alteração no metabolismo lipídico em presença do polimorfismo do gene *IL-6R* (rs7529229) (SWERDLOW *et al.*, 2012). No entanto, não está claro se o efeito observado seria do medicamento ou decorrente da supressão do estado inflamatório (CHOY; SATTAR, 2009). Esta citocina também tem sido responsável por estimular a lipólise em indivíduos saudáveis, em virtude da inibição da lipase lipoprotéica (LPL) (VAN HALL *et al.*, 2003).

Conforme o exposto, é importante enfatizar que parece ser essencial diferir se a IL-6 está elevada de forma aguda ou crônica, quão elevada está sua concentração, o tecido no qual foi expressa (CRON *et al.*, 2016) e, finalmente, considerar que em modelos animais

essas relações não necessariamente irão reagir da mesma forma que ocorrem em seres humanos (QU *et al.*, 2014).

2.3 Consumo alimentar e interleucina-6

Os efeitos do consumo alimentar sobre os biomarcadores inflamatórios são usualmente investigados através de estudos transversais, de coortes e de intervenção. Os dois primeiros delineamentos citados, em geral, envolvem amostras com elevado número de participantes, enquanto os de intervenção apresentam amostras pequenas e restrito tempo de duração, além da adesão ser uma possível limitação na habilidade de identificar o efeito (CALDER *et al.*, 2011).

Em revisão sistemática (BARBARESCO *et al.*, 2013) e não sistemática (AHLUWALIA *et al.*, 2013) de literatura com o objetivo de avaliar padrões alimentares e biomarcadores de inflamação, é destacado o fato da maioria das pesquisas ajustarem para indicadores de obesidade e, mesmo com esse ajuste, a associação permanece significativa. Nesse sentido, é possível sugerir que o efeito da exposição seja parcialmente mediado por composição corporal (AHLUWALIA *et al.*, 2013). Até momento, não há consenso sobre a fonte celular promotora da expressão de citocinas com propriedade pró-inflamatória na presença de obesidade, porém a infiltração de macrófagos no tecido adiposo, decorrente do baixo grau de inflamação relacionado a essa enfermidade, parece ter importante papel, mas uma expressão proveniente dos adipócitos não pode ser desconsiderada (EDER *et al.*, 2009; CALDER *et al.*, 2011).

Sob outra perspectiva, segundo recente meta-análise, um polimorfismo na região promotora do gene da IL-6 (rs1800795) foi associado com obesidade em quatro modelos genéticos, dominante (GC/CC vs. GG; razão de *odds* – RO 1,58; IC95% 1,09; 2,28), recessivo (CC vs. GC/GG; RO 1,28; IC95% 1,07; 1,55), homozigoto (CC vs. GG: RO 1,61; IC95% 1,13; 2,29) e heterozigoto (GC vs. GG; RO 1,48; IC95% 1,01; 2,17). Os autores enfatizaram que fatores ambientais e estilo de vida, dentre esses a alimentação, poderiam influenciar e interagir com o polimorfismo estudado (HU *et al.*, 2018). Resultados provenientes de um ensaio clínico randomizado (ECR), verificaram que o mesmo polimorfismo (rs1800795) modificou o efeito do padrão de alimentação mediterrânea sobre

o peso corporal (RAZQUIN *et al.*, 2010), mas não sobre biomarcadores inflamatórios (CORELLA *et al.*, 2009).

Ao avaliar a repercussão da alimentação sobre aspectos genéticos, a maior adesão aos padrões alimentares identificados como saudáveis pelos autores, pode atuar, tanto na atenuação da predisposição genética para obesidade (escore genético de risco constituído por 77 polimorfismos de nucleotídeo único -SNPs associados ao IMC) (WANG *et al.*, 2018), quanto reduzir a metilação da região promotora do gene de IL-6 em leucócitos. Nessa pesquisa, ao avaliar a associação de maneira inversa, o resultado não foi estatisticamente significativo (ZHANG *et al.*, 2012). Considerando a variedade de fatores que podem se relacionar, pesquisas que investiguem as interações gene-ambiente devem ser conduzidas, a fim de se melhor esclarecer a associação entre polimorfismos de IL-6 e suscetibilidade à obesidade (HU *et al.*, 2018) e a relação da alimentação com e os aspectos genéticos (STEEMBURGO *et al.*, 2009).

No que tange às evidências diretas do consumo alimentar sobre biomarcadores inflamatórios, os achados sobre alimentos e nutrientes individuais permanecem inconsistentes (GALLAND, 2010; CALDER *et al.*, 2011; LABONTE *et al.*, 2013; SILVEIRA *et al.*, 2018). Como exemplo disso, o efeito do consumo de um único vegetal ou fruta sobre marcadores de inflamação não é claro (CALDER *et al.*, 2011), em virtude do sinergismo entre os diferentes componentes da alimentação (GERALDO; ALFENAS, 2008). Nessa conjuntura, ao revisarem a literatura, os autores corroboram ao reportar associação inversa de IL-6 sérica com padrões alimentares considerados saudáveis, *a priori* (AHLUWALIA *et al.*, 2013; BARBARESKO *et al.*, 2013; DEFAGO *et al.*, 2014; SMIDOWICZ; REGULA, 2015). Uma meta-análise de ensaios clínicos randomizados com duração mínima de 12 meses, ao avaliar 17 estudos (2.300 indivíduos adultos) com respeito ao padrão alimentar de dieta mediterrânea e marcadores inflamatórios reportou redução, em média, de 0,42 pg/mL (IC95%: -0,73; -0,11) da IL-6 entre os participantes que aderiram a esse padrão (SCHWINGSHACKL; HOFFMANN, 2014).

Por outro lado, em análise transversal, com uma amostra de funcionários de instituições brasileiras públicas de ensino e pesquisa, foi identificado que o consumo de alimentos ultraprocessados aumentou a média aritmética de PCR (razão de média aritmética -RMA 1,09; IC95% 1,04; 1,15). Um decréscimo acentuado da estimativa, que incluiu a

unidade no IC95%, ocorreu quando se ajustou para circunferência da cintura (CRUZ, 2016). O padrão alimentar tipo ocidental, tem apresentado relação direta com as concentrações séricas dessa citocina (AHLUWALIA *et al.*, 2013; BARBARESKO *et al.*, 2013; DEFAGO *et al.*, 2014; SMIDOWICZ; REGULA, 2015). Cabe destacar que o mesmo foi apontado, recentemente, pelo maior consumo de alimentos ultraprocessados e promotor de um processo inflamatório decorrente das alterações na composição e metabolismo da microbiota intestinal (ZINOCKER; LINDSETH, 2018). No Brasil, a aquisição domiciliar e o consumo individual de hortaliças mostraram relação inversa com alimentos ultraprocessados (CANELLA *et al.*, 2018).

Nesse sentido, o principal mecanismo que fundamenta os resultados apresentados, sobre a repercussão da alimentação no processo inflamatório de baixo grau é relacionado às vias de estresse oxidativo (AHLUWALIA *et al.*, 2013). Substâncias presentes nos alimentos que recebem processamento industrial, bem como, a baixa qualidade da dieta atrelada à maior adesão desse padrão, induzem a produção de espécies reativas. Da mesma forma que a síntese de espécies reativas pode ser prevenida por antioxidantes presentes nos alimentos *in natura* (GERALDO; ALFENAS, 2008; CALDER *et al.*, 2011; SCHWINGSHACKL; HOFFMANN, 2014; ZINOCKER; LINDSETH, 2018). Sendo assim, reitera-se o impacto positivo de uma alimentação variada, rica em alimentos *in natura* e baixa ingestão de alimentos pertencentes ao padrão ocidental na prevenção do estado inflamatório de baixo grau e enfermidades associadas (SILVEIRA *et al.*, 2018).

Cabe salientar que distintos métodos de extração dos dados de consumo alimentar, diferentes procedimentos para estabelecimento dos padrões alimentares (BARBARESKO *et al.*, 2013) e a subjetividade do pesquisador na construção dos padrões alimentares (BORGES *et al.*, 2015) podem implicar em prejuízo na interpretação e comparação dos resultados. Além disso, há um enfoque na PCR como desfecho, enquanto é limitada a literatura sobre outros biomarcadores inflamatórios, como por exemplo a IL-6 (CALDER *et al.*, 2011).

Ainda, é possível que a conexão entre alimentação e processo inflamatório não se restrinja ao tipo de alimento consumido. É também referido que a ingestão energética (consumo de calorias totais/dia) pode modular a inflamação, ou seja, dietas hipocalóricas têm propriedades anti-inflamatórias (KORYBALSKA *et al.*, 2017). Todavia, ainda não há consenso se essa redução de marcadores inflamatórios é resultado da menor ingestão

energética, da perda de peso ou da natureza da alimentação utilizada em estudos que promovem dietas hipocalóricas (CALDER *et al.*, 2011).

2.3.1 Revisão de literatura

A fim de identificar estudos originais que avaliaram a associação entre variáveis de consumo alimentar, independente da forma como foram investigadas e/ou analisadas, e a concentração sérica de IL-6 foi realizada uma busca sistemática na base de dados eletrônica MEDLINE (*PubMed*). Utilizou-se uma combinação dos seguintes termos indexados como *Medical Subject Headings* (MESH) e palavras-chave frequentes em artigos da área: (*diet OR food consumption OR food intake OR dietary pattern* OR dietary food OR dietary habits*) AND (*interleukin-6 OR IL-6 OR IL6 OR inflammation*) AND (*adult OR adults OR adulthood OR aged OR elderly OR old*) e, restringiu-se para publicações da última década até 09 de maio de 2018, nos idiomas inglês, português e espanhol de pesquisas em humanos.

Como critérios de elegibilidade para os estudos originais foi definido como parâmetro de inclusão: (I) adultos sem morbidade específica e de exclusão; (II) artigos que avaliaram o consumo alimentar sob o aspecto de macro e micronutrientes; (III) estudos com um único alimento; (IV) amostra de gestantes ou lactantes; (V) ensaios clínicos não randomizados, que tenham promovido restrição calórica e/ou avaliado o efeito conjunto com outras intervenções, além da dietética; (VI) repetidas publicações do mesmo estudo, nesse caso foi incluído o artigo com maior amostra ou com mais informação sobre a IL-6.

O processo de revisão é apresentado na Figura 3, tendo sido realizado por único avaliador que utilizou o programa EndNote® versão X7. Como resultado foram selecionadas 24 publicações.

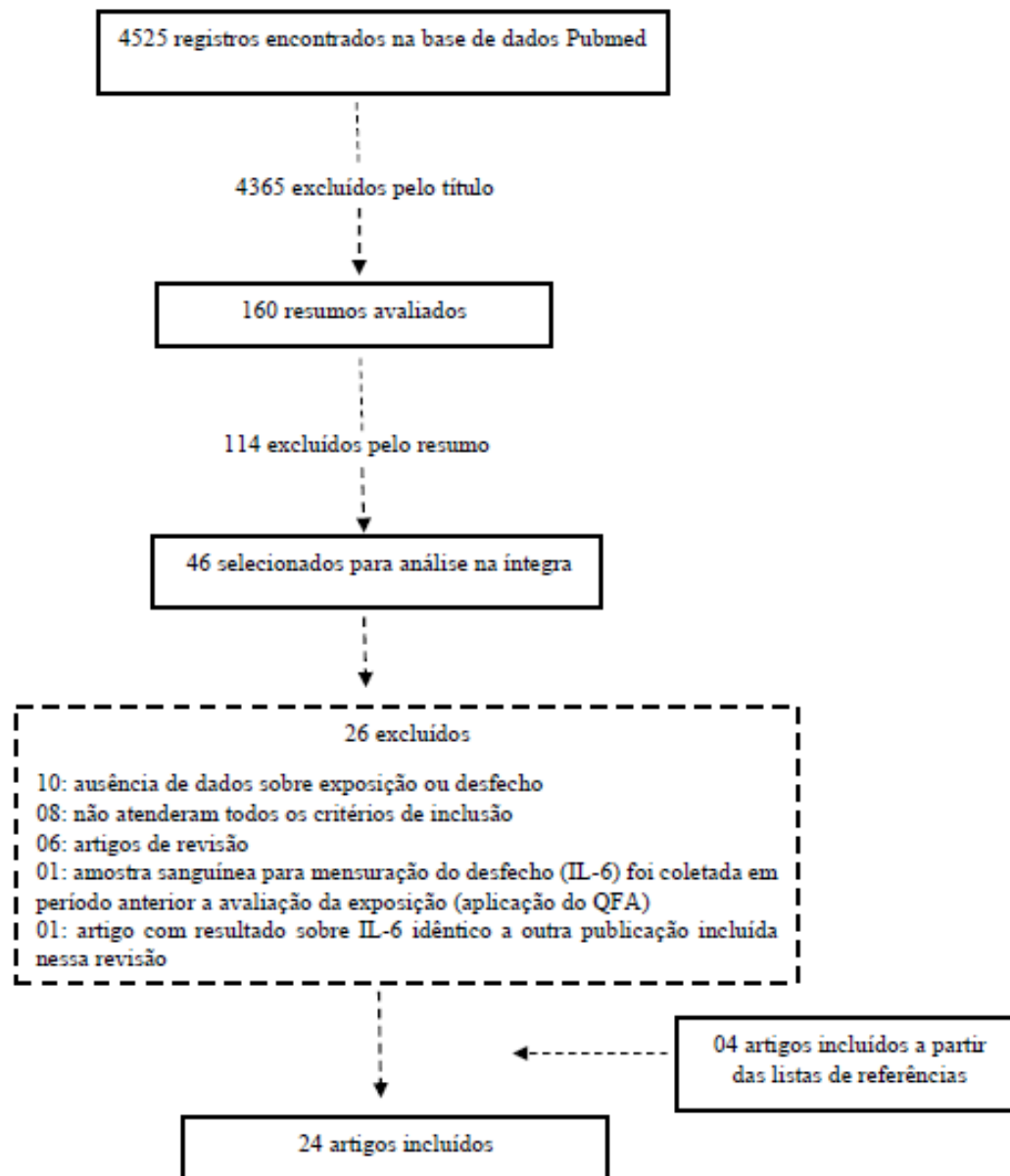


Figura 3: Fluxograma da revisão de literatura sobre associação entre consumo alimentar e concentração sérica de IL-6.

2.3.1.1 Considerações sobre a revisão de literatura

Os 24 artigos originais selecionados estão sintetizados em duas figuras no Apêndice A, sendo a primeira com os nove estudos longitudinais (seis ensaios clínicos randomizados e três coortes) e a segunda, com os demais artigos que apresentaram análise ou delineamento transversal. No relato dos principais resultados houve destaque naqueles referentes à IL-6 entre as pesquisas que avaliaram diversos biomarcadores como desfecho.

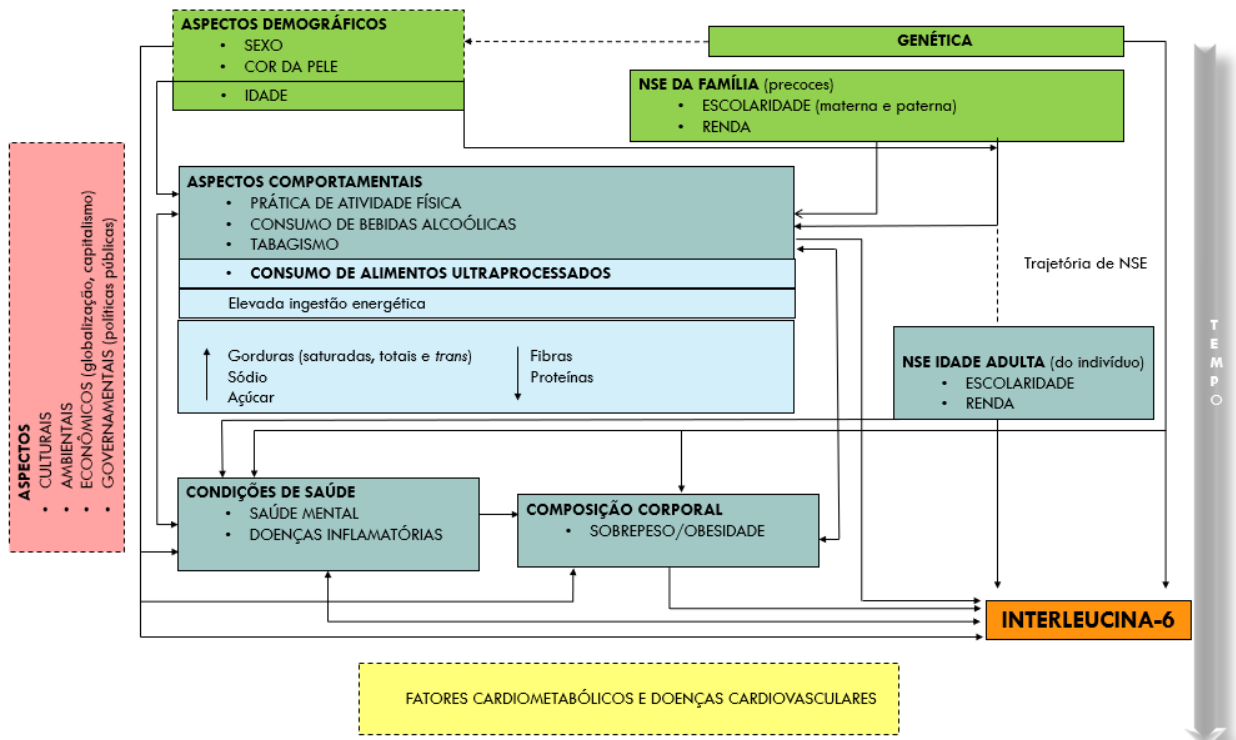
De forma sucinta é possível fazer as seguintes considerações sobre as 24 unidades de análise:

- Em relação ao local, a maioria foi conduzida em países de renda alta, sendo oito europeus, 12 norte-americanos (desses 11 nos Estados Unidos), três asiáticos e um na Oceania.
- Além da IL-6, 23 estudos incluíram a avaliação de outros biomarcadores inflamatórios e/ou de risco cardiovascular como desfecho.
- O estudo de Akbaraly e colaboradores (2015) foi o único que considerou como desfecho específico a concentração sérica de IL-6 em uma coorte de funcionários públicos britânicos.
- Aproximadamente 83% (20 artigos) utilizou o QFA como metodologia de informação para o consumo alimentar.
- Em seis estudos longitudinais e outros seis transversais foi observada associação inversa entre adesão aos padrões de consumo alimentar definidos *a priori*, ou seja, aqueles conceitualmente considerados saudáveis ou conforme diretrizes de recomendações nutricionais, e a concentração sérica de IL-6.
- Ao utilizar metodologias *a posteriori* ou combinando ambas para identificação de padrões alimentares, duas pesquisas também encontraram associação inversa da alimentação saudável com as concentrações séricas de IL-6.
- Outros sete estudos avaliaram a dieta sob o aspecto do consumo de fibras alimentares ou grupos de alimentos, tais como laticínios (baixo teor de gordura), leguminosas, frutas e vegetais, somente vegetais crucíferos e oleaginosas. Os participantes com maior consumo desses alimentos apresentaram menor concentração da citocina.
- As covariáveis comumente incluídas como fatores de confusão, em sequência decrescente conforme o número de publicações que foram citadas entre parênteses são: fatores demográficos (24), IMC (15), variáveis comportamentais (14), ingestão energética (10), características socioeconômicas (oito), uso de medicamentos (inclusive anti-inflamatórios) (seis), menopausa e terapia de reposição hormonal (seis), morbidade de risco cardiometabólico e presença de DCV (cinco).

- Em dois estudos com delineamento transversal (FUNG *et al.*, 2008; MEYER *et al.*, 2011), a associação entre variáveis de consumo alimentar e IL-6 foi investigada sem controle para possíveis fatores de confundimento.
- Nos três estudos em que o IMC foi incluído na análise como fator mediador (HUANG *et al.*, 2016; YU *et al.*, 2016; TABUNG *et al.*, 2017) da associação entre o consumo alimentar e a IL-6 houve redução na medida de efeito, após a inclusão dessa variável.
- Dois ECR *crossover* não identificaram resultado significativo para associação de interesse (SANTIAGO-TORRES *et al.* 2016; KIM *et al.* 2017). Ao compará-los com os estudos de mesmo delineamento incluídos na presente revisão, ambos tiveram um curto período de acompanhamento, o que pode ter inviabilizado a possibilidade de encontrar efeito, e reduzido tamanho amostral (cerca de 50 participantes em cada um deles) que, por consequência, pode acarretar falta de poder para encontrar associação. Há ainda um terceiro estudo que também não encontrou resultado significativo (KANERVA *et al.*, 2014). Neste último, com delineamento transversal, a não associação pode ser consequência do ajuste para possíveis mediadores como a circunferência da cintura e a ingestão energética (KANERVA *et al.*, 2014).

Tendo em vista que não foram identificados estudos que avaliaram o consumo alimentar sob o aspecto da classificação NOVA ou empregado outro sistema de classificação de alimentos fundamentado no processamento e IL-6 como desfecho, a busca continuará sendo atualizada durante as demais etapas do presente projeto. Com essa revisão de literatura é possível constatar que o consumo de gêneros alimentícios pertencentes aos grupos *in natura* ou minimamente processados e processados (NOVA), repercutem em relação inversa com as concentrações de IL-6, da mesma forma em que a ingestão de alimentos ultraprocessados tem associação positiva com essa citocina.

2.4 Modelo conceitual



NSE: nível socioeconômico

Figura 4: Modelo conceitual das relações com a concentração sérica de IL-6.

Este modelo conceitual foi elaborado com base no marco teórico e mostra os fatores que têm influência na concentração sérica de IL-6, com destaque para o consumo de alimentos ultraprocessados. De acordo com o modelo, características genéticas, socioeconômicas e demográficas se encontram em um nível mais distal e, de acordo com conhecimentos prévios, as duas últimas têm influência direta sobre aspectos comportamentais, que por sua vez, são relacionadas com saúde mental, doenças inflamatórias e composição corporal.

Em um nível macro (retângulo rosa) são apresentados os fatores culturais, ambientais, econômicos e governamentais, intrínsecos às características comportamentais, além disso, têm relação com as demais variáveis presentes na figura acima. Como o principal

objetivo dessa tese, foco do artigo original analítico, é estudar a associação entre o consumo alimentar e as concentrações séricas de IL-6 aos 30 anos, a partir deste modelo teórico serão identificadas as categorias de análise para apontar as variáveis a serem consideradas como possíveis fatores de confusão, mediação ou interação nas associações entre o consumo alimentar e IL-6.

Os retângulos em verde representam as características precoces, ou seja, aquelas do início da vida que, de acordo com as origens do desenvolvimento das doenças terão influência nos desfechos ao longo da vida, enquanto os aspectos em tonalidade azul se referem às variáveis medidas na idade adulta. Fatores cardiometabólicos e DCV (retângulo amarelo) não serão avaliados pelos artigos originais da presente proposta. Entretanto, estão relacionados com o modelo e fazem parte da justificativa para o desenvolvimento deste projeto, na busca de melhor compreensão dos mecanismos para prevenção das referidas enfermidades.

3. JUSTIFICATIVA

A presença dos alimentos ultraprocessados na dieta é crescente, especialmente em países de baixa e média renda (MOODIE *et al.*, 2013; PAHO/WHO, 2015) e recomendações nutricionais brasileiras têm orientado a redução no consumo de tais alimentos (BRASIL, 2014; 2018). Paralelamente, o sistema imune tem figurado como um importante regulador do metabolismo, como exemplo, o papel da citocina IL-6 relacionada ao risco cardiovascular (YUDKIN *et al.*, 2000; PAL *et al.*, 2014). Ademais, em revisão da literatura, com enfoque nos estudos de randomização mendeliana que sugerem o efeito de biomarcadores em relação às DCV, a IL-6 tem sido referida como possível fator de risco para essas enfermidades. Nesses mesmos estudos tem sido refutada essa hipótese para outros biomarcadores de inflamação, destacando-se a PCR (JANSEN *et al.*, 2014), a qual no âmbito da epidemiologia nutricional é extensamente avaliada como desfecho, de acordo com uma revisão da literatura sobre alimentação e inflamação de baixo grau (CALDER *et al.*, 2011).

Embora sejam consistentes as evidências de que os alimentos ultraprocessados configuram como um significativo componente associado às desordens cardiometabólicas, é de fundamental importância preencher lacunas no campo científico sobre os mecanismos biológicos pelos quais essa exposição possa repercutir na saúde humana. Além disso, é importante identificar características genéticas, demográficas, socioeconômicas, comportamentais e de composição corporal, em especial as passíveis de serem modificadas e que possam amenizar os efeitos pró-inflamatórios da IL-6, sem comprometer sua propriedade anti-inflamatória e que também se inter-relacionam com o consumo alimentar e são consideradas fatores de risco para DCV.

No âmbito da saúde pública, os achados do presente projeto podem colaborar com o planejamento, execução e fundamentação teórica das ações de prevenção e no controle das DCV, essencialmente em países de baixa e média renda, para os quais são escassos dados de pesquisas de base populacional com as abordagens propostas, com destaque para as análises longitudinais que podem verificar as consequências decorrentes de longos períodos de exposição.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral:

Descrever a epidemiologia da IL-6 sérica aos 30 anos de idade e avaliar sua relação com consumo de alimentos ultraprocessados na Coorte de Nascimentos de 1982 da cidade de Pelotas, RS, Brasil.

4.2 Objetivos Específicos:

- Realizar uma revisão sistemática de literatura, sobre classificações de alimentos fundamentadas no grau de processamento e fatores de risco metabólicos para doenças cardiovasculares em adultos.
- Descrever a concentração sérica de IL-6 aos 30 anos de idade em relação às variáveis demográficas, socioeconômicas do início da vida e na idade adulta, comportamentais, composição corporal e elaboração de um escore de risco poligênico para concentração sérica de IL-6.
- Analisar a associação entre consumo de alimentos ultraprocessados e IL-6 aos 30 anos de idade e possíveis mediadores dessa associação.

5. HIPÓTESES

- O consumo de alimentos com elevado processamento industrial será relacionado com fatores de risco cardiometabólicos.
- Os indivíduos com as seguintes características apresentarão maior concentração sérica de interleucina-6 aos 30 anos de idade: condições socioeconômicas desfavoráveis desde a infância até a idade adulta, elevada adiposidade e aqueles com consumo excessivo de bebidas alcoólicas, tabagistas e inativos fisicamente. O escore de risco poligênico será capaz de predizer a variabilidade da concentração sérica de IL-6.
- Os participantes que mantiverem o consumo elevado de alimentos ultraprocessados apresentarão maior concentração sérica de interleucina-6 aos 30 anos de idade e essa associação será mediada por adiposidade e qualidade nutricional da alimentação.

6. METODOLOGIA

A apresentação da metodologia dos estudos propostos no presente projeto está estruturada em duas seções básicas. A primeira descrevendo o artigo de revisão sistemática e a segunda abordando os artigos originais que serão conduzidos com os dados do Estudo da Coorte de Nascimentos de 1982, nos quais o desfecho é a concentração sérica de IL-6 aos 30 anos, mas que são distintos no escopo das variáveis independentes e plano de análise.

6.1 Metodologia do artigo de revisão sistemática de literatura

Artigo 1 – Sistemas de classificação dos alimentos baseados no processamento e suas relações com os principais fatores metabólicos de risco para doenças cardiovasculares em adultos: uma revisão sistemática.

Será realizada uma investigação sistemática de estudos originais que avaliam a associação entre consumo de alimentos de acordo com o processamento e os principais fatores metabólicos de risco para doenças cardiovasculares, os quais compreendem: pressão arterial, glicemia ou DM2, perfil lipídico e sobrepeso/obesidade.

As bases de dados eletrônicas *PubMed*, *Web of Science* e *LILACS* serão examinadas até um período determinado, com restrição aos idiomas inglês, português e espanhol. A avaliação das referências bibliográficas dos artigos selecionados para identificar outros estudos potencialmente relevantes será também, uma estratégia de busca.

A fim de definir os termos de busca, além dos Descritores em Ciências da Saúde (DECS) e *Medical Subject Headings* (MESH) foi realizada investigação exploratória com o propósito de identificar palavras-chave consistentemente relatadas em artigos da área. Sendo assim, serão utilizadas as seguintes palavras-chave: (*convenience foods* OR *food processing* OR *highly-processed* OR *industrialized foods* OR *minimally-processed* OR *prepared foods* OR *processed foods* OR *ultra-processed* OR *ultraprocessed* OR *ultra processed* OR *unprocessed*) AND (*metabolic syndrome* OR *hypertension* OR *blood pressure* OR *diabetes mellitus* OR *glucose* OR *glycaemia* OR *insulin* OR *cholesterol* OR *triglycerides* OR *blood*

lipids OR overweight OR obesity) AND (adult OR adults OR adulthood OR aged OR elderly OR old).

6.1.1 Critérios de elegibilidade

Para serem elegíveis, os estudos precisam ser conduzidos em humanos e devem avaliar a associação entre consumo de alimentos de acordo com o processamento (exposição) e fatores metabólicos de risco para doenças cardiovasculares (desfecho), em adultos com idade igual ou superior a 20 anos e não definam como amostra indivíduos com alguma condição de saúde especial, exceto aquelas de interesse da presente revisão. Caso houver avaliação de diferentes grupos etários, os mesmos serão incluídos e considerados os resultados relativos aos adultos.

A exposição, definida como consumo de alimentos de acordo com o grau de processamento, permite a inclusão de artigos que utilizaram como referência um sistema de classificação de alimentos, considerando o processamento industrial para definição dos grupos de gêneros alimentícios.

6.1.2 Etapas da seleção dos estudos

Dois avaliadores independentes realizarão a seleção dos artigos a serem incluídos na revisão. Em caso de divergências entre estes um terceiro revisor conduzirá o julgamento. Primeiramente as publicações serão importadas para o programa EndNote® versão X7, no qual será procedida a verificação de duplicatas, seguida da leitura dos títulos e resumos. Os estudos selecionados nas etapas anteriores de acordo com os critérios de elegibilidade serão lidos na íntegra. Possíveis artigos identificados nas referências bibliográficas desses últimos, relacionados ao objeto de estudo dessa revisão e que, por ventura, não tenham sido previamente selecionados, poderão ser adicionados nessa etapa.

6.1.3 Análise dos dados

De cada publicação incluída as seguintes informações serão extraídas: nome do autor principal, ano de publicação, país, caracterização e tamanho da amostra, delineamento, método utilizado para mensurar a exposição, ajustes para fatores de confusão e mediadores (se houver) e principais resultados.

Na avaliação da qualidade geral e metodológica dos estudos de intervenção e observacionais serão utilizados *Consolidated Standards of Reporting Trials* (CONSORT) (MOHER *et al.*, 2010) e declaração *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE) (VON ELM *et al.*, 2007), respectivamente.

6.2 Metodologia dos artigos originais

Artigo 2–Epidemiologia da interleucina-6 em adultos nascidos na cidade de Pelotas no ano de 1982.

Artigo 3 – Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica aos 30 anos em uma coorte de nascimentos na cidade de Pelotas – RS.

6.2.1 Delineamento

A Coorte de Nascimentos de 1982 é um estudo epidemiológico prospectivo, que além das vantagens inerentes a esse tipo de delineamento, permite investigar os fatores determinantes do processo saúde-doença ao longo do ciclo vital. O presente projeto inclui uma análise transversal que descreverá fatores contemporâneos relacionados às concentrações de IL-6 aos 30 anos e outra longitudinal, que pretende avaliar a trajetória de nível socioeconômico e o consumo de alimentos ultraprocessados como variáveis independentes. Maiores detalhes metodológicos sobre este estudo de Coorte de Nascimentos são apresentados em publicações prévias (VICTORA; BARROS, 2006; BARROS *et al.*, 2008; HORTA *et al.*, 2015).

Em síntese, a Coorte original é constituída pelos nascidos vivos durante o período de 1º de janeiro a 31 de dezembro de 1982, em todas as maternidades de Pelotas e cujas mães residiam na zona urbana deste município, contabilizando 5.914 participantes, os quais representam 99,2% do total de nascimentos daquele ano.

Até o momento ocorreram nove visitas de acompanhamento ao longo da vida dos participantes, nas idades de um, dois, quatro, 13, 15, 18, 19, 23 e 30 anos, sendo que em quatro destes havia interesse em todos os membros da Coorte (BARROS *et al.*, 2008; HORTA *et al.*, 2015). Na Figura 5 são encontradas as informações dos dois últimos acompanhamentos, dos quais serão extraídos os principais dados que compõem a presente

proposta. Esses foram conduzidos quando os membros da Coorte já estavam na idade adulta, sendo realizados em 2004-05 e 2012-13. As informações sobre os números dos entrevistados somados ao número de óbitos conhecidos previamente a cada um desses períodos mostram taxas de acompanhamento de 77,4% e 68,1%, respectivamente.

Ano	Descrição da população-alvo	Idade média	Entrevistados
1982	Todos os nascidos vivos nos hospitais de Pelotas de janeiro a dezembro de 1982 cujas mães residiam na zona urbana.	Nascimento	5.914
2004-05	Todos os participantes da coorte	22,8 anos	4.297
2012-13	Todos os participantes da coorte	30,2 anos	3.701

Figura 5: Acompanhamentos da coorte de 1982 cujas variáveis serão incluídas no projeto.
Fonte: adaptado BARROS, 2008; HORTA, 2015.

6.2.2 População em estudo

Amostras de soro foram obtidas dos membros da Coorte de 1982 que compareceram na clínica para participar do acompanhamento dos 30 anos, totalizando 3.453 amostras. As gestantes, no momento da entrevista, foram excluídas da coleta de sangue. Tendo em vista os recursos para aquisição dos *kits* de dosagem desta citocina, a população em estudo da presente proposta incluirá os participantes com mensuração de IL-6 aos 30 anos ($n = 2.988$). Estes foram selecionados de forma aleatória simples, dentre aqueles em que também há amostra de soro disponível referente ao acompanhamento de 2004-05.

6.2.3 Cálculo de poder

Para o artigo analítico, com o objetivo de avaliar o poder da amostra definida *a posteriori* foram utilizadas as informações de média e desvio-padrão da concentração sérica de IL-6, disponíveis no banco de dados da Coorte de Nascimentos de 1982. Considerando-se um erro α de 5%, concentração média de IL-6 de 2,01pg/mL e desvio-padrão de 1,98 pg/mL foram conduzidas simulações para encontrar diferenças de médias entre 0,2 a 1,0 pg/mL, com base na revisão da literatura.

Uma vez que o desfecho foi mensurado em 2.988 participantes, o cálculo de poder foi realizado com esse tamanho amostral. Assim, para a variável de exposição principal (consumo de alimentos ultraprocessados), avaliada de forma contínua, serão consideradas as diferenças na concentração média de IL-6 a cada mudança de uma unidade da exposição. Pretende-se categorizar a exposição em tercís de consumo de alimentos ultraprocessados para fins de comparação com a literatura internacional. Na Figura 6 são apresentados os resultados dos cálculos de poder para um tamanho amostral de 996 indivíduos, que corresponde ao número de indivíduos em cada tercil. Nesse caso, o primeiro tercil apresentará a média e a medida de dispersão padronizados para esse cálculo de poder (2,01 pg/mL e 1,98 pg/mL, respectivamente) e as simulações indicam as possíveis diferenças na concentração média de IL-6 para as demais categorias de exposição, em relação ao tercil de referência. Os cálculos foram realizados no *software* estatístico Stata (Stata Corp., College Station, TX, USA), versão 14.2.

Simulações para diferenças de médias na concentração sérica de IL-6 (pg/mL)									
	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
Amostra	Poder (%)								
2988	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
996	89,0	99,8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Figura 6: Resultados da análise do cálculo de poder.

6.2.4 Logística do acompanhamento de 2012-2013

Quando os membros da Coorte de 1982 completaram 30 anos, foi realizado um acompanhamento com início em junho de 2012 e término em fevereiro de 2013, o qual tinha como população-alvo todos os nascidos vivos, durante o ano de 1982, cujas mães residiam na zona urbana de Pelotas. Este último acompanhamento foi intitulado “Acompanhamento aos 30 anos de idade dos adultos jovens pertencentes à Coorte de nascimentos de 1982:

Influências precoces e contemporâneas sobre a composição corporal, capital humano, saúde mental e precursores de doenças crônicas complexas. Pelotas, RS”.

Para localização dos participantes, primeiramente, foi realizado contato telefônico utilizando informações do acompanhamento anterior (2004-05), porém essa estratégia não foi suficiente. Sendo assim, quatro meses antes do trabalho de campo, rastreadores (*motoboys*) foram enviados aos endereços registrados com o intuito de obter informações atualizadas para localização dos membros da Coorte. Estratégias de divulgação em meios de comunicação da cidade e busca em redes sociais e sítios da *web* também foram utilizadas a fim de convidá-los para o acompanhamento dos 30 anos.

Neste acompanhamento, diferentemente dos anteriores, a coleta de dados foi realizada em uma clínica preparada pela equipe de pesquisa, com experiência em trabalho de campo, onde foram aplicados os questionários e obtidas as medidas e exames físicos necessários para o alcance dos objetivos do projeto principal. Para a obtenção dos dados foram selecionados entrevistadores, com prática em pesquisa e/ou com capacitação específica para a realização dos exames e da coleta de sangue. Os candidatos deveriam ter idade superior a 18 anos, ensino médio completo e disponibilidade de 40 horas semanais. Os indivíduos selecionados foram treinados, nos meses de abril e maio de 2012, utilizando os instrumentos da pesquisa (questionários e equipamentos), sob responsabilidade dos pesquisadores e doutorandos do Programa de Pós-graduação em Epidemiologia (PPGEpi). No final do mês de maio, foi conduzido um estudo piloto com o intuito de avaliar previamente a logística do campo, no qual a equipe que trabalhou no acompanhamento foi dividida em dois grupos para que em um momento servissem de “participantes da coorte” nas entrevistas e exames e, posteriormente, fossem os responsáveis pela coleta de dados.

O trabalho de campo foi realizado na clínica de pesquisa, localizada no prédio B das dependências do PPGEpi. As entrevistas, medidas antropométricas e coleta de sangue dos participantes que não puderam comparecer no referido local foram conduzidas em domicílio por uma equipe de entrevistadores treinados. Na clínica, primeiramente, foram realizados procedimentos de identificação e cadastro. Em seguida, o participante, portando um crachá com identificação (código de barras), era recebido por um dos doutorandos que o informava sobre os procedimentos que seriam realizados e fazia a leitura do Termo de Consentimento

Livre e Esclarecido (TCLE), no qual o participante deveria assinalar os procedimentos que concordasse em participar.

Os questionários foram desenvolvidos em *software* específico para coleta de dados, o *Pendragon*. Este sistema permitiu a coleta de informações através de *netbooks* e todas as entrevistas foram armazenadas em um servidor específico. A programação de *scripts* para pré/pós-processamento foi feita no ambiente de desenvolvimento do próprio *software* estatístico Stata (Stata Corp., College Station, TX, USA). Neste mesmo programa foram executados os diversos *scripts* para tratamento de dados e também de inconsistências. Foram aplicados os seguintes questionários: geral, confidencial (autoaplicado), Questionário de Frequência Alimentar (QFA), *Mini International Neuropsychiatric Interview* (M.I.N.I.) e *Wechsler Adult Intelligence Scale* (QI-WAIS).

Com equipamentos calibrados conforme especificações dos fabricantes e realizados os devidos controles de qualidade para obtenção das medidas, os participantes foram submetidos aos seguintes exames: pletismografia por deslocamento de ar (Bod Pod®), densitometria óssea (DEXA), avaliação das dimensões corporais (*photonic scanner*), espirometria, ultrassom abdominal e de carótidas, coleta de sangue, antropometria (pregas cutâneas subescapular e tricipital, circunferência da cintura, perímetro braquial, altura, altura sentado) e pressão arterial.

Detalhes sobre os instrumentos e procedimentos utilizados na coleta das variáveis dependente e independentes que constituem o escopo dessa proposta serão apresentados a seguir. Cabe esclarecer que para o presente projeto a maioria das variáveis e o desfecho são provenientes do acompanhamento dos 30 anos.

6.2.5 Desfecho: interleucina-6

No acompanhamento de 2012-13 a coleta de sangue, sem jejum dos participantes, foi conduzida na Clínica Médica de Pesquisa em Saúde Coletiva por técnico de enfermagem. Neste procedimento, através de sistema fechado (a vácuo) e com o indivíduo deitado em uma maca, eram coletados cinco tubos totalizando 20 mL de sangue.

O sangue coletado era levado para o Laboratório de Análises Biológicas do Centro de Pesquisas Epidemiológicas para processamento, efetuado por profissionais com nível superior e capacidade para trabalhar em análises laboratoriais. Os mesmos realizaram o

preparo para armazenamento das amostras no biorepositório, preservadas em ultrafreezers com temperatura de -80°C . Entre julho e setembro de 2017, a partir de amostras do soro, a concentração sérica de IL-6 (em pg/mL) foi mensurada por meio da técnica *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) com o kit Quantikine® HS ELISA Human IL-6 (HighSensitivity), da empresa R&D Systems, Inc. (Minneapolis, Minnesota, USA) e auxílio da leitora *SpectraMax 190*, comercializada pela empresa *Molecular Devices* (Sunnyvale, California, USA). O protocolo ilustrado dessa metodologia corresponde ao Apêndice B.

6.2.6 Exposição: consumo alimentar

A exposição principal do presente projeto e do terceiro artigo original é proveniente dos QFAs aplicados em 2004-05 e 2012-13, os quais informam sobre o hábito alimentar dos últimos doze meses. No acompanhamento dos 23 anos, o QFA disponível no endereço eletrônico (www.epidemiio-ufpel.org.br), foi adaptado em relação ao desenvolvido e validado por Sichieri e colaboradores (1998). Tal instrumento foi constituído por 85 itens alimentares distribuídos em dois componentes: quantitativo, com a avaliação da porção e medidas caseiras (70 alimentos e preparações) e qualitativo, apenas com a informação da frequência de consumo. Aos 30 anos, o QFA semiquantitativo com 88 alimentos e/ou preparações foi autopreenchido em versão eletrônica (SCHNEIDER *et al.*, 2016). A Figura 7 ilustra seu *layout*.

A variável do consumo de alimentos ultraprocessados para os 23 anos foi construída em conformidade com a classificação NOVA (BIELEMANN *et al.*, 2015). Essa mesma classificação foi utilizada no banco de dados do último acompanhamento, quando os entrevistados estavam com idade média de 30 anos. A partir de referência atual da NOVA (MONTEIRO *et al.*, 2016), cada alimento presente nos QFAs será classificado como ultraprocessado e não ultraprocessado. Duas nutricionistas realizarão esse procedimento e, em caso de discordância, um terceiro revisor, com experiência na área de epidemiologia nutricional, conduzirá esse julgamento. As frequências de consumo referidas para cada alimento dos QFAs serão transformadas em consumo anual multiplicando pelos valores de 365,24 dias/ano, 52,18 semanas/ano, 12 meses e um ano, a fim de se obter informações de consumo diário, mensal, semanal e anual, respectivamente. A ingestão da porção em medidas caseiras de cada alimento será convertida para gramas, utilizando-se a Tabela para Avaliação

do Consumo Alimentar em Medidas Caseiras – 5ª edição (PINHEIRO *et al.*, 2005). A ingestão em gramas será convertida para a quantidade de nutrientes segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO)¹, ou a USDA *Nutrient Database for Standard Reference*², quando indisponível na TACO.

As calorias serão calculadas para cada alimento multiplicando carboidratos e proteínas por 4 kcal e lipídeos por 9 kcal. Na sequência, a ingestão energética anual será sumarizada no total de quilocalorias provenientes dos macronutrientes (carboidratos, proteínas e lipídeos) de cada item incluído no QFA. Por fim, o total de ingestão energética diária será calculado pela divisão do valor obtido no cálculo anual por 365,24. Para obtenção do percentual de ingestão energética diária proveniente dos alimentos ultraprocessados, o total de calorias diárias oriunda do consumo desses alimentos será dividido pela energia diária total de todos os alimentos incluídos no QFA e o resultado multiplicado por 100, com base na metodologia previamente descrita por BIELEMANN e colaboradores (2015).

O diagrama ilustra o fluxo do questionário eletrônico (QFA) para a avaliação do consumo alimentar. Ele é dividido em quatro seções principais, rotuladas A, B, C e D, conectadas por setas que indicam a ordem de preenchimento.

- A: Página inicial do questionário.** Exibe o logotipo do Centro de Pesquisas Epidemiológicas (CPE) e o título "Questionário de frequência alimentar". Inclui instruções para o usuário sobre como responder e campos para identificação.
- B: Frequência de consumo.** Apresenta a pergunta "9. MORANGO" e uma lista de opções de frequência com botões de seleção: "Nunca ou menos de 1 vez por mês", "1 a 3 vezes por mês" (selecionada), "1 vez por semana", "2 a 4 vezes por semana", "5 a 6 vezes por semana", "1 vez por dia", "2 a 4 vezes por dia" e "5 ou mais vezes por dia".
- C: Época de consumo.** Apresenta a pergunta "Época" com opções "Sim" e "Não".
- D: Tamanho da porção.** Apresenta a pergunta "Porção Média" com opções "Igual", "Menos" e "Mais". Abaixo, há uma imagem de uma tigela com morangos e o texto "Média Um Pires".

As setas indicam o fluxo: de A para B, de B para C, e de C para D. Há também uma seta de retorno de B para A.

Figura 7: Layout do QFA eletrônico autopreenchido dos 30 anos; (A) página inicial do questionário com informações de preenchimento; (B) frequência de consumo; (C) época de consumo (apenas para alguns alimentos); e (D) tamanho da porção.

Fonte: adaptado SCHNEIDER *et al.*, 2016.

¹Universidade Estadual de Campinas, Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação - NEPA. Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO. 4 ed. rev. amp. Campinas (SP): UNICAMP; 2011.

²USDA National Nutrient Database for Standard Reference. Beltsville: Human Nutrition Research Center, Nutrient Data Laboratory; 2011. Disponível em <<http://ndb.nal.usda.gov>>. Acesso em: 30 set. 2018.

6.2.7 Exposições demográficas, socioeconômicas, comportamentais, composição corporal e escore de risco poligênico

As exposições abordadas no artigo descritivo são apresentadas na Figura 8, que também mostra o ano em que foi realizado o acompanhamento no qual a variável foi coletada e o instrumento utilizado.

Os questionários padronizados de todos os acompanhamentos estão disponíveis no endereço eletrônico do PPGEpi, citado anteriormente. A acelerometria foi realizada com a finalidade de mensuração objetiva da atividade física, e os membros da Coorte foram instruídos para utilização no pulso do acelerômetro à prova d'água, *GENEActiv®* (*ActivInsights, Kimbolton, UK*), por um período de quatro a sete dias, incluindo um dia de final de semana. Este equipamento mede a aceleração em três eixos (vertical, medio-lateral e anteroposterior) e fornece a estimativa de aceleração em mili-g ($1000 \text{ mg} = 1 \text{ g} = 9,81 \text{ m/s}^2$).

No tocante à composição corporal, as aferições antropométricas de peso, altura e circunferência da cintura foram realizadas após treinamento e padronização dos entrevistadores em balança com capacidade para 150 kg, estadiômetro com precisão de 0,1 cm e fita métrica inextensível com precisão de 0,1 cm. Todas as medidas foram realizadas em duplicata, se a diferença fosse superior ao limite aceitável (valores abaixo de 100 gramas para o peso, 0,7 cm para altura e 0,1 cm para circunferência da cintura), a antropometrista realizava mais uma medida e registrava os novos valores no computador (sem substituir as anteriores). Independente do erro persistir ou não, um terceiro conjunto de aferições não foi realizado. Com os valores de peso e altura o IMC = peso (kg)/altura (m²) foi calculado.

No presente projeto, também há o interesse em analisar como exposição a gordura corporal (GC). Essa medida foi obtida tanto pelo princípio de atenuação de raios X em diferentes tecidos corporais, fornecendo resultados para os tecidos ósseo, magro e gordo, estimada pela Absorciometria por Dupla Emissão de Raios X (DEXA) quanto pelo princípio de deslocamento de ar em uma câmara fechada, na qual é possível obter a informação de volume corporal para estimar a gordura corporal, pela técnica de pletismografia por deslocamento de ar (Bod Pod®). Nesse último equipamento a massa magra é obtida por diferença. Ademais, será avaliada como exposição a espessura da gordura visceral, localizada ao redor dos órgãos da cavidade abdominal, a qual corresponde em plano sagital a distância do peritônio até a coluna lombar, aferida por ultrassonografia abdominal, utilizando o

aparelho de ultrassom da marca Toshiba, modelo Xario com transdutor convexo eletrônico de 3,5MHz.

As gestantes não participaram da coleta de dados tanto da acelerometria, quanto das mensurações de composição corporal. Também para a primeira avaliação, foram excluídos os participantes que não estariam em Pelotas por tempo superior a uma semana, assim como, aqueles com atividade laboral que impedisse a utilização do acelerômetro na rotina diária e deficientes físicos. Ainda, mulheres no período pós-parto inferior a três meses não foram observadas nos procedimentos de composição corporal. Para o DEXA, indivíduos com implantes de metais e aqueles com peso superior a 120 kg, também foram excluídos.

Em análise secundária, há o interesse em calcular um escore de risco poligênico para determinação da concentração sérica de IL-6, tendo em vista a estimativa que a hereditariedade é responsável por cerca de 57% das concentrações de IL-6 (DE CRAEN *et al.*, 2005). Escores de risco poligênico sumarizam os dados provenientes dos estudos de associação genômica ampla (GWAS: *Genomewide Association Studies*) em uma única variável que quantifica a responsabilidade genética para uma determinada enfermidade ou característica, ponderando para magnitude do efeito de cada SNP (LEWIS; VASSOS, 2017). Dessa forma, após a elaboração do escore de risco poligênico a partir de SNPs selecionados em estudos de GWAS, será calculado o escore individual dos participantes da Coorte de 1982 baseado nos dados de genotipagem e posteriormente se avaliará a relação desse escore com o fenótipo. A varredura genômica dos participantes foi realizada utilizando *Illumina Omni 2.5M array*. Foram genotipados 2,5 milhões de SNPs, de 3.736 indivíduos, com amostras de DNA do acompanhamento de 2004-05.

ANO	VARIÁVEIS INDEPENDENTES	INSTRUMENTO E DEFINIÇÃO	TIPO DE VARIÁVEL
DEMOGRÁFICAS			
1982	Sexo do recém-nascido	Questionário padronizado Masculino/feminino	Categórica dicotômica
2012-13	Cor da pele autorreferida	Questionário padronizado Branca/parda ou preta/amarela ou indígena	Categórica nominal
SOCIOECONÔMICAS			
1982	Renda familiar ao nascer	Questionário padronizado Em salários mínimos: ≤1/1,1-3/ 3,1-6/ 6,1-10/ > 10	Categórica ordinal
1982	Escolaridade materna	Questionário padronizado Em anos completos de estudo	Numérica discreta
1984	Escolaridade paterna	Questionário padronizado Em anos completos de estudo	Numérica discreta
2012-13	Escolaridade do participante	Questionário padronizado Em anos completos de estudo	Numérica discreta
2012-13	Renda familiar do participante	Questionário padronizado Em salários mínimos: ≤1/ 1,1-3/ 3,1-6/ 6,1-10/ > 10	Categórica ordinal
2012-13	Mudança de renda familiar do nascimento aos 30 anos	Questionário padronizado Sempre pobre/pobre – não pobre/não pobre – pobre/nunca pobre	Categórica ordinal

Figura 8 (continua): Exposições demográficas, socioeconômicas, comportamentais e composição corporal.

ANO	VARIÁVEIS INDEPENDENTES	INSTUMENTO E DEFINIÇÃO	TIPO DE VARIÁVEL
COMPORTAMENTAIS			
2012-13	Consumo de álcool	QFA Número de doses	Categórica ordinal
2012-13	Fumo	Questionário padronizado Nunca fumou/ ex-fumante/fumante	Categórica ordinal
2012-13	Atividade física	Acelerômetro Minutos de atividade física por semana	Numérica contínua
COMPOSIÇÃO CORPORAL			
2012-13	Índice de massa corporal (IMC) e estado nutricional	Calculado a partir do peso corporal (kg)/ altura (m ²): peso corporal (balança) e altura (estadiômetro). Em kg/m ² e estado nutricional em categorias de IMC: baixo peso e eutrófico ($\leq 24,9$ kg/m ²); sobrepeso ($25,0-29,9$ kg/m ²); obesidade ($\geq 30,0$ kg/m ²).	Numérica contínua e categórica ordinal
2012-13	Circunferência da cintura	Fita métrica inextensível Em centímetros (cm)	Numérica contínua
2012-13	Gordura corporal	Bod Pod® ou DEXA Em quilogramas (kg)	Numérica contínua
2012-13	Gordura visceral	Ultrassom abdominal Em centímetros (cm)	Numérica contínua

Figura 8: Exposições demográficas, socioeconômicas, comportamentais e composição corporal.

6.2.8 Plano de análise do artigo 2

Epidemiologia da interleucina-6 em adultos nascidos na cidade de Pelotas no ano de 1982.

Para o segundo artigo descritivo serão utilizadas as variáveis de exposição e desfecho exibidas abaixo, conforme definidas nas seções 6.2.5 e 6.2.7.

- Desfecho: concentração sérica de IL-6 aos 30 anos de idade (pg/mL).
- Exposição: características demográficas (sexo e cor da pele autorreferida), socioeconômicas (mudança de renda do nascimento aos 30 anos; escolaridade materna; escolaridade paterna e escolaridade do membro da coorte aos 30 anos), comportamentais (consumo de bebidas alcoólicas; atividade física e fumo), composição corporal (IMC; circunferência da cintura; gordura corporal e gordura visceral) e escore de risco poligênico.

Inicialmente, no que diz respeito as variáveis numéricas, será procedida a avaliação de suas distribuições com inspeção visual através do gráfico histograma e estatística por *skewness* e *kurtosis* e proximidade entre média e mediana. Caso tenham distribuição assimétrica, será decidido sobre a necessidade de conduzir transformações, categorizações ou padronizações. Para descrição da população em estudo, variáveis categóricas serão apresentadas através de frequências absoluta e relativa, enquanto as numéricas com medidas de tendência central e dispersão.

A concentração sérica de IL-6 aos 30 anos (pg/mL) será analisada de forma numérica contínua, sendo realizados todos os procedimentos citados acima para este tipo de variável, excluindo-se apenas a possibilidade de categorização ou padronização da mesma. Sendo assim, as concentrações do desfecho de acordo com cada exposição serão descritas com medida de tendência central, dispersão, análises de correlação e modelos lineares generalizados. Um possível efeito de modificação pelo sexo do entrevistado será investigado pelo teste de interação. Se houver evidência de modificação de efeito (valor $p < 0,10$), os resultados serão apresentados de forma estratificada para homens e mulheres. Todas as análises serão conduzidas no *software* Stata versão 14.2 (Stata Corp., College Station, TX, USA).

6.2.9 Plano de análise do artigo 3

Consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica aos 30 anos em uma coorte de nascimentos na cidade de Pelotas – RS.

Para o segundo artigo serão utilizadas as variáveis de exposição e desfecho apresentadas abaixo, conforme definidas nas seções 6.2.5 e 6.2.6.

- Desfecho: concentração sérica de IL-6 aos 30 anos de idade (pg/mL).
- Exposição: consumo de alimentos ultraprocessados.
- Possíveis confundidores: o gráfico acíclico direcionado (DAG) apresentado na Figura 9, construído com o auxílio do *software* Dagitty (disponível em: (<http://www.dagitty.net/>)) tem o intuito de orientar sobre os possíveis fatores de confusão que devem ser ajustados nas análises para estabelecer o efeito do consumo de alimentos ultraprocessados sobre a concentração sérica de IL-6. De acordo com esta figura, as análises devem ser ajustadas para os aspectos demográficos, socioeconômicos e comportamentais (modelo conceitual-Figura 4 e Figura 7 mostram as variáveis em cada um destes blocos) representadas pelas setas de cor rosa e, as setas verdes refletem caminhos causais entre exposição e desfecho. O artigo dois (Epidemiologia da interleucina-6 em adultos nascidos na cidade de Pelotas no ano de 1982), também irá contribuir para identificar variáveis que possam estar relacionadas, ou não, com o desfecho na população em estudo e assim elucidar caminhos que ainda não se têm totalmente clareza. Dessa forma, caso necessário será construído um DAG refinado, fundamentado nos resultados observados pelo segundo artigo que compõe o presente projeto. Ainda, para melhorar a qualidade de ajuste e evitar confusão residual, será avaliada a necessidade de incluir no modelo as variáveis coletadas no início da vida, tais como idade gestacional, peso ao nascer e duração da amamentação.

Para caracterização da população em estudo, serão efetuados os mesmos procedimentos descritos no plano de análise do artigo dois, de acordo com o tipo de variável. A fim de definir se serão utilizados dados dos QFAs aplicados nos dois últimos acompanhamentos, se realizará a descrição do consumo de alimentos ultraprocessados aos 23 anos, aos 30 e agrupando os dois períodos. Assim, será possível comparar as distribuições em termos de medidas de tendência central e dispersão, visualmente

(gráfico *box plot*), além de calcular o coeficiente de variação. Sendo este inferior a 10%, indicando pouca variação no consumo desses alimentos entre os dois períodos, a primeira opção de análise será utilizar os dados do consumo de alimentos ultraprocessados apenas do primeiro acompanhamento (categorizados em tercís) e verificar sua associação com o desfecho. Em situação que indique elevada variabilidade da exposição dos 23 aos 30 anos, a segunda alternativa de análise será utilizar um modelo que considere a possibilidade de mudança das covariáveis. Assim sendo, o coeficiente de regressão da variável independente, β (Δ consumo de alimentos ultraprocessados), representará a influência da variação da exposição em dois momentos sobre a concentração sérica de IL-6. Em outras palavras, o desfecho aos 30 anos predito pela variação no consumo de ultraprocessados entre o último e o primeiro período. Uma última opção de análise nesse caso será a construção de trajetórias, ou seja, definir três categorias de exposição: permanência no 1º tercil e 3º tercil e a categoria de referência serão aqueles que apresentaram mudança durante o período (1º \rightarrow 3º tercil; 3º \rightarrow 1º tercil) ou permaneceram no 2º tercil do consumo de alimentos ultraprocessados.

A concentração sérica de IL-6 (pg/mL) também será abordada como uma variável numérica contínua e, caso seja preciso, será efetuada transformação para a melhor distribuição deste dado. Após verificação dos pressupostos, será conduzida análise de regressão linear, a qual fornecerá o coeficiente de regressão β . Este coeficiente informará a mudança em média da concentração sérica de IL-6 (em pg/mL) a cada categoria do consumo de alimentos ultraprocessados em relação ao grupo referência (indivíduos no primeiro tercil). Também serão mostrados seus respectivos intervalos de confiança de 95% e será considerado como resultado estatisticamente significativo valor $p < 0,05$.

Antes de incluir as variáveis confundidoras no modelo, se verificará a possibilidade de colinearidade entre estas. Em caso positivo, a variável que apresentar maior associação com o desfecho será mantida no modelo ajustado. Com o intuito de definir a estratificação por sexo na apresentação dos resultados, será incluído um termo de interação no modelo de regressão (para este teste um valor $p < 0,10$ indicará modificação de efeito). De acordo com a Figura 10, pretende-se utilizar *G-formula* para avaliar o possível efeito indireto que pode ser atribuído aos possíveis mediadores da

associação de interesse desse projeto, composição corporal (adiposidade) e qualidade da alimentação (composição de nutrientes).

Tendo em vista a limitação do instrumento (QFA) na definição do grau de processamento de pães (pão integral/preto e pão branco), análise de sensibilidade será realizada para esse alimento. A mesma análise de sensibilidade será procedida para os participantes que apresentaram mensuração de IL-6 externa aos pontos de detecção da curva padrão (0 a 10 pg/mL). As análises serão conduzidas no *software* Stata versão 14.2 (Stata Corp., College Station, TX, USA).

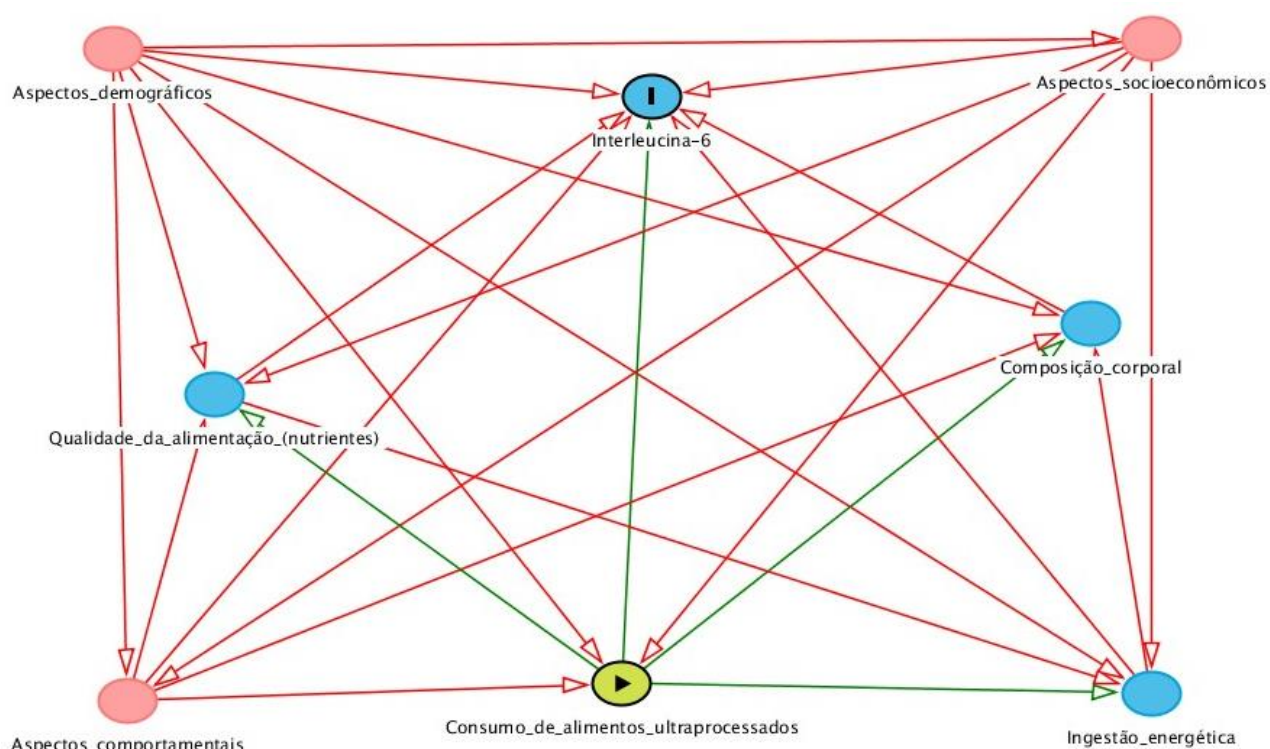


Figura 9: Gráfico acíclico direcionado (DAG) representando a relação do consumo de alimentos ultraprocessados e a concentração sérica de IL-6.

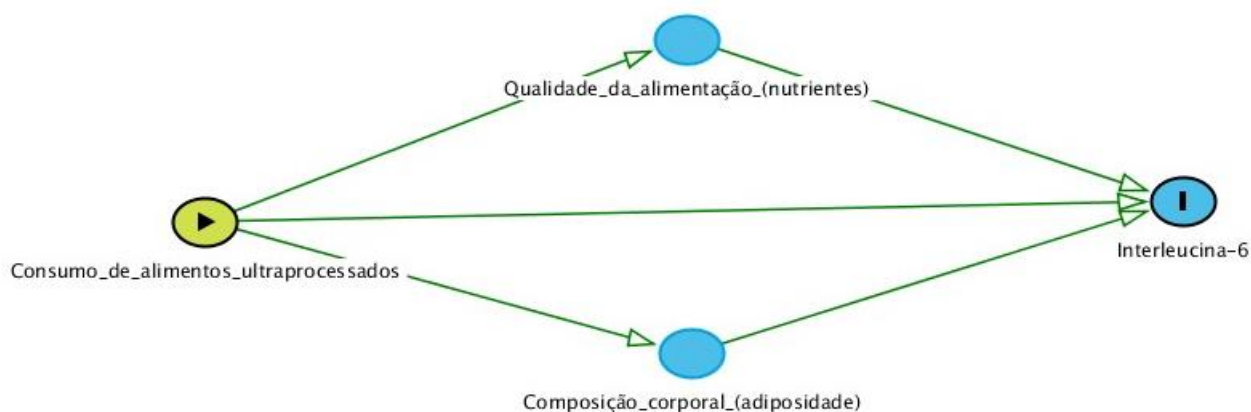


Figura 10: Gráfico acíclico direcionado (DAG) representando as variáveis mediadoras a serem analisadas na relação do consumo de alimentos ultraprocessados e a concentração sérica de IL-6.

6.2.10 Aspectos éticos

Os acompanhamentos da coorte de 1982 foram aprovados pelo Comitê de Ética, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Nas etapas iniciais até 1986 foi obtido o consentimento verbal e por escrito nos demais acompanhamentos.

6.3 Financiamento

O estudo da coorte de nascimentos de 1982 obteve recursos para sua realização de 2004 a 2013 da iniciativa *Wellcome Trust (Major Awards for Latin America on Health Consequences of Population Change)*, também financiaram essa fase da pesquisa o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) e Fundação de Amparo à pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS). Em fases anteriores houve aporte financeiro do *International Development Research Center* (Canadá), Organização Mundial da Saúde, *Overseas Development Administration*, União Européia, Programa Nacional de Núcleos de Excelência (PRONEX) e o Ministério da Saúde (Brasil). A dosagem de IL-6 foi financiada pelo CNPq. Além disso, o autor proponente desse projeto é bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

6.4 Cronograma

Atividades	2017 (bimestres)				2018 (bimestres)				2019 (bimestres)				2020 (bimestres)			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Revisão de literatura																
Elaboração do projeto																
Trabalho de campo*																
Análise dos dados																
Redação de artigos																
Defesa de tese																

* Realizado no laboratório de análises biológicas do Centro de Pesquisas Epidemiológicas (construção do banco de dados da IL-6 e respectivos relatórios).

6.5 Divulgação dos resultados

Os resultados dos três artigos e relatório da tese decorrentes do presente projeto serão apresentados em eventos científicos e submetidos para publicação em periódicos científicos nacionais e/ou internacionais indexados na área de saúde coletiva. Também será enviado ao setor de comunicação do PPGEpi resumo dos principais resultados em linguagem acessível, com o intuito de estimular a divulgação pela imprensa local.

7. REFERÊNCIAS

ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H.; PILLAI, Shiv. **Imunologia Celular e Molecular**. 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015. 1262p.

AHLUWALIA, N. et al. Dietary patterns, inflammation and the metabolic syndrome. **Diabetes & Metabolism**, v. 39, n. 2, p. 99-110, Apr 2013.

AKBARALY, T. N. et al. Long-term adherence to healthy dietary guidelines and chronic inflammation in the prospective Whitehall II study. **The American Journal of Medicine**, v. 128, n. 2, p. 152-160, Feb 2015.

AL RIFAI, M. et al. The relationship between smoking intensity and subclinical cardiovascular injury: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Atherosclerosis**, v. 258, p. 119-130, Mar 2017.

ALPERS, D. H. et al. History and Impact of Nutritional Epidemiology. **Advances in Nutrition**, v. 5, n. 5, p. 534-536, 2014.

BARAN, P. et al. The balance of Interleukin (IL)-6, IL-6: soluble IL-6 receptor (IL-6R) and IL-6: sIL-6R: sgp130 complexes allows simultaneous classic and trans-signaling. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 293, n.18, p. 6762-75, Mar 2018.

BARBARESCO, J. et al. Dietary pattern analysis and biomarkers of low-grade inflammation: a systematic literature review. **Nutrition Reviews**, v. 71, n. 8, p. 511-27, Aug 2013.

BARROS, F. C. et al. Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004-5, Pelotas, RS. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. Supl.2, p. 7-15, Dez 2008.

BERMUDEZ, E. A. Interrelationships Among Circulating Interleukin-6, C- Reactive Protein, and Traditional Cardiovascular Risk Factors in Women. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 22, n. 10, p. 1668-73, Jul 2002.

BIELEMANN, R. M. et al. Consumption of ultra-processed foods and their impact on the diet of young adults. **Revista de Saúde Pública**, v. 49, n. 28, p.1-10, May 2015.

BORGES, C. A. et al. Dietary patterns: a literature review of the methodological characteristics of the main step of the multivariate analyzes. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 18, n. 4, p. 837-57, Oct-Dec 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências.

_____. **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 210 p.

_____. **Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022.** Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 160 p.

_____. **Guia alimentar para a população brasileira.** Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 156 p.

_____. **Orientações para avaliação de marcadores de consumo alimentar na atenção básica.** Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 33 p.

_____. **Alimentação Cardioprotetora: Manual de orientações para os profissionais de saúde da Atenção Básica.** Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 126 p.

CALDER, P. C. et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. **British Journal of Nutrition**, v. 106 Suppl 3, p. S5-78, Dec 2011.

CANELLA, D. S. et al. Ultra-processed food products and obesity in Brazilian households (2008-2009). **PloS ONE**, v. 9, n. 3, p. E92752, Mar 2014.

_____. Consumption of vegetables and their relation with ultra-processed foods in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 52, n. 50, 2018.

CASAS, R. et al. The effects of the Mediterranean diet on biomarkers of vascular wall inflammation and plaque vulnerability in subjects with high risk for cardiovascular disease. A randomized trial. **PloS ONE**, v. 9, n. 6, p. E100084, Jun 2014.

_____. Long-Term Immunomodulatory Effects of a Mediterranean Diet in Adults at High Risk of Cardiovascular Disease in the PREvencion con DIeta MEDiterránea (PREDIMED) Randomized Controlled Trial. **The Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1684-93, Sep 2016.

CHOY, E.; SATTAR, N. Interpreting lipid levels in the context of high-grade inflammatory states with a focus on rheumatoid arthritis: a challenge to conventional cardiovascular risk actions. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 68, n. 4, p. 460-9, Apr 2009.

CORELLA, D. et al. Polymorphisms cyclooxygenase-2 -765G>C and interleukin-6 -174G>C are associated with serum inflammation markers in a high cardiovascular risk population and do not modify the response to a Mediterranean diet supplemented with virgin olive oil or nuts. **The Journal of Nutrition**, v. 139, n. 1, p. 128-34, Jan 2009.

COSTA, C. S. et al. Consumption of ultra-processed foods and body fat during childhood and adolescence: a systematic review. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 148-159, Jan 2018.

CREWS, F. T. et al. Cytokines and alcohol. **Alcoholism Clinical & Experimental Research**, v. 30, n. 4, p. 720-30, Apr 2006.

CRON, L. et al. The role of gp130 receptor cytokines in the regulation of metabolic homeostasis. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, n. Pt 2, p. 259-65, Jan 2016.

CRUZ, Aline Ester da Silva. **Consumo de alimentos ultraprocessados e proteína C-reativa no estudo longitudinal de saúde do adulto (ELSA-Brasil)**. 2016. 61 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Nutrição) – Escola de Nutrição, Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais. 2016

DA SILVEIRA, J. A. C. et al. Association between overweight and consumption of ultra-processed food and sugar-sweetened beverages among vegetarians. **Revista de Nutrição**, v. 30, n. 4, p. 431-441, Jul-Aug 2017.

DAI, J. et al. Adherence to the Mediterranean diet is inversely associated with circulating interleukin-6 among middle-aged men: a twin study. **Circulation**, v. 117, n. 2, p. 169-75, Jan 2008.

DE CRAEN, A. J. et al. Heritability estimates of innate immunity: an extended twin study. **Genes and Immunity**, v. 6, n. 2, p. 167-70, Mar 2005.

DEFAGO, M. D. et al. Influence of food patterns on endothelial biomarkers: a systematic review. **The Journal of Clinical Hypertension (Greenwich)**, v. 16, n. 12, p. 907-13, Dec 2014.

DI GREGORIO, G. B. et al. Lipid and carbohydrate metabolism in mice with a targeted mutation in the IL-6 gene: absence of development of age-related obesity. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v. 287, n. 1, p. E182-7, Jul 2004.

EBRAHIM, S.; SMITH, D. G. Mendelian randomization: can genetic epidemiology help redress the failures of observational epidemiology? **Human Genetics**, v. 123, n. 1, p. 15-33, Feb 2008.

EDER, K. et al. The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. **Inflammation Research**, v. 58, n. 11, p. 727-36, Nov 2009.

ELLINGSGAARD, H. et al. Interleukin-6 regulates pancreatic alpha-cell mass expansion. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 35, p. 13163-8, Sep 2008.

ESMAILZADEH, A.; AZADBAKHT, L. Legume consumption is inversely associated with serum concentrations of adhesion molecules and inflammatory biomarkers among Iranian women. **The Journal of Nutrition**, v. 142, n. 2, p. 334-9, Feb 2012.

FAO. **Guidelines on the collection of information on food processing through food consumption surveys**. Roma:Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015. 44 p.

FARDET, A. et al. Current food classifications in epidemiological studies do not enable solid nutritional recommendations for preventing diet-related chronic diseases: the impact of food processing. **Advances in Nutrition**, v. 6, n. 6, p. 629-38, Nov 2015.

_____. Minimally processed foods are more satiating and less hyperglycemic than ultra-processed foods: a preliminary study with 98 ready-to-eat foods. **Food & Function**, v. 7, n. 5, p. 2338-46, May 2016.

FARGNOLI, J. L. et al. Adherence to healthy eating patterns is associated with higher circulating total and high-molecular-weight adiponectin and lower resistin concentrations in women from the Nurses' Health Study. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 5, p. 1213-24, Nov 2008.

FIOLET, T. et al. Consumption of ultra-processed foods and cancer risk: results from NutriNet-Santé prospective cohort. **British Medical Journal**, v. 360, p. K322, Feb 2018.

FUNG, T. T. et al. Adherence to a DASH-style diet and risk of coronary heart disease and stroke in women. **Archives of Internal Medicine**, v. 168, n. 7, p. 713-20, Apr 2008.

GALLAND, L. Diet and inflammation. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 25, n. 6, p. 634-40, Dec 2010.

GERALDO, J. M.; ALFENAS, R. C. G. Papel da dieta na prevenção e no controle da inflamação crônica: evidências atuais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 6, p. 951-67, Aug 2008.

GHANEMI, A.; ST-AMAND, J. Interleukin-6 as a "metabolic hormone". **Cytokine**, Jul 2018.

GIBNEY, M. J. et al. Ultra-processed foods in human health: a critical appraisal. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 106, n. 3, p. 717-724, Sep 2017.

GOGUET-RUBIO, P. et al. Existence of a Strong Correlation of Biomarkers and miRNA in Females with Metabolic Syndrome and Obesity in a Population of West Virginia. **International Journal of Medical Sciences**, v. 14, n. 6, p. 543-553, Apr 2017.

GOLZARAND, M. et al. Association between modifiable lifestyle factors and inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. **Eastern Mediterranean Health Journal**, v. 18, n. 7, p. 735-741, Jul 2012.

HAJER, G. R.; VAN HAEFTEN, T. W.; VISSEREN, F. L. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. **European Heart Journal**, v. 29, n. 24, p. 2959-71, Dec 2008.

HAMER, M. et al. Physical activity and inflammatory markers over 10 years: follow-up in men and women from the Whitehall II cohort study. **Circulation**, v. 126, n. 8, p. 928-33, Aug 2012.

HARRIS, T. B. et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. **The American Journal of Medicine**, v. 106, n. 5, p. 506-12, May 1999.

HEINRICH, P. C. et al. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemical Journal**, v. 265, n. 3, p. 621-36, Feb 1990.

_____. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. **Biochemical Journal**, v. 374, n. Pt 1, p. 1-20, Aug 2003.

HIRANO, T. et al. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. **Nature**, v. 324, n. 6092, p. 73-6, Nov 1986.

HOEBEECK, L. I. et al. The relationship between diet and subclinical atherosclerosis: results from the Asklepios Study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 5, p. 606-13, May 2011.

HORTA, B. L. et al. Cohort Profile Update: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. **International Journal of Epidemiology**, v. 44, n. 2, p. 441-441e, Apr 2015.

HU, M. et al. Association between -174G>C polymorphism in the IL-6 promoter region and the risk of obesity: A meta-analysis. **Medicine**, v. 97, n. 33, p. E11773, Aug 2018.

HUANG, T. et al. An Increase in Dietary Quality Is Associated with Favorable Plasma Biomarkers of the Brain-Adipose Axis in Apparently Healthy US Women. **The Journal of Nutrition**, v. 146, n. 5, p. 1101-8, May 2016.

HUH, J. Y. The role of exercise-induced myokines in regulating metabolism. **Archives of Pharmacal Research**, v. 41, n. 1, p. 14-29, Jan 2018.

JANSEN, H. et al. Mendelian randomization studies in coronary artery disease. **European Heart Journal**, v. 35, n. 29, p. 1917-24, Aug 2014.

JARVIE, J. L. et al. Effect of physical activity level on biomarkers of inflammation and insulin resistance over 5 years in outpatients with coronary heart disease (from the Heart and Soul Study). **The American Journal of Cardiology**, v. 114, n. 8, p. 1192-7, Oct 2014.

JIANG, Y. et al. Cruciferous vegetable intake is inversely correlated with circulating levels of proinflammatory markers in women. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 114, n. 5, p. 700-8.e2, May 2014.

JULIA, C. et al. Contribution of ultra-processed foods in the diet of adults from the French NutriNet-Santé study. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 27-37, Jan 2018.

JUUL, F. et al. Ultra-processed food consumption and excess weight among US adults. **British Journal of Nutrition**, v. 120, n. 1, p. 90-100, May 2018.

KAMIMURA, D. et al. IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. **Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology**, v. 149, p. 1-38, Oct 2003.

KANERVA, N. et al. Associations of the Baltic Sea diet with obesity-related markers of inflammation. **Annals of Medicine**, v. 46, n. 2, p. 90-6, Mar 2014.

KIM, Y.; KEOGH, J. B.; CLIFTON, P. M. Effects of Two Different Dietary Patterns on Inflammatory Markers, Advanced Glycation End Products and Lipids in Subjects without Type 2 Diabetes: A Randomised Crossover Study. **Nutrients**, v. 9, n. 4, Mar 2017.

KISHIMOTO, T. The biology of interleukin-6. **Blood**, v. 74, n. 1, p. 1-10, Jul 1989.

KORYBALSKA, K. et al. Weight loss-dependent and -independent effects of moderate calorie restriction on endothelial cell markers in obesity. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 68, n. 4, p. 597-608, Aug 2017.

LABONTE, M. E. et al. Impact of dairy products on biomarkers of inflammation: a systematic review of randomized controlled nutritional intervention studies in overweight and obese adults. **The Journal of Nutrition**, v. 97, n. 4, p. 706-17, Apr 2013.

_____. Dairy product consumption has no impact on biomarkers of inflammation among men and women with low-grade systemic inflammation. **The Journal of Nutrition**, v. 144, n. 11, p. 1760-7, Nov 2014.

LEE, J. K. et al. Association between serum interleukin-6 concentrations and mortality in older adults: the Rancho Bernardo study. **PloS ONE**, v. 7, n. 4, p. E34218, Apr 2012.

LEWIS, C. M.; VASSOS, E. Prospects for using risk scores in polygenic medicine. **Genome Medicine**, v. 9, n. 1, p. 96, Nov 2017.

LI, F. et al. Myokines and adipokines: Involvement in the crosstalk between skeletal muscle and adipose tissue. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 33, p. 73-82, Feb 2017.

LIN, Y. H.; JEN, M. H.; CHIEN, K. L. Association between life-course socioeconomic position and inflammatory biomarkers in older age: a nationally representative cohort study in Taiwan. **BMC Geriatrics**, v. 17, n. 1, p. 201, Sep 2017.

LOCK, K. et al. Health, agricultural, and economic effects of adoption of healthy diet recommendations. **The Lancet**, v. 376, n. 9753, p. 1699-1709, Nov 2010.

LOUCKS, E. B. et al. Association of educational level with inflammatory markers in the Framingham Offspring Study. **American Journal of Epidemiology**, v. 163, n. 7, p. 622-8, Apr 2006.

_____. Life course socioeconomic position is associated with inflammatory markers: the Framingham Offspring Study. **Social Science & Medicine**, v. 71, n. 1, p. 187-95, Jul 2010.

LOUZADA, M. et al. The share of ultra-processed foods determines the overall nutritional quality of diets in Brazil. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 94-102, Jan 2018.

LOWE, G. et al. Circulating inflammatory markers and the risk of vascular complications and mortality in people with type 2 diabetes and cardiovascular disease or risk factors: the ADVANCE study. **Diabetes**, v. 63, n. 3, p. 1115-23, Mar 2014.

MA, Y. et al. Association between dietary fiber and markers of systemic inflammation in the Women's Health Initiative Observational Study. **Nutrition**, v. 24, n. 10, p. 941-9, Oct 2008.

MAJEM, Lluís Serra; VILLEGAS, A. Sánchez. Epidemiología nutricional. In: MAJEM, Lluís Serra; BARTIRINA, Javier Aranceta. **Nutrición y Salud Pública**. 2. Ed. Barcelona: Masson, 2006. P. 65-71.

MARTINEZ STEELE, E. et al. Ultra-processed foods, protein leverage and energy intake in the USA. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 114-24, Jan 2018.

MARTINS, A. P. et al. Increased contribution of ultra-processed food products in the Brazilian diet (1987-2009). **Revista de Saúde Pública**, v. 47, n. 4, p. 656-65, Aug 2013.

MCDADE, T. W. et al. Comparative insights into the regulation of inflammation: levels and predictors of interleukin 6 and interleukin 10 in young adults in the Philippines. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 146, n. 3, p. 373-84, Nov 2011.

MEDENWALD, D. et al. Educational level and chronic inflammation in the elderly – the role of obesity: results from the population-based CARLA study. **Clinical Obesity**, v. 5, n. 5, p. 256-65, Oct 2015.

MENDONÇA, R. D. et al. Ultraprocessed food consumption and risk of overweight and obesity: the University of Navarra Follow-Up (SUN) cohort study. **The Journal of Nutrition**, v. 104, n. 5, p. 1433-40, Nov 2016.

_____. Ultra-Processed Food Consumption and the Incidence of Hypertension in a Mediterranean Cohort: The Seguimiento Universidad de Navarra Project. **American Journal of Hypertension**, v. 30, n. 4, p. 358-366, Apr 2017.

MENEZES, A. M. B. et al. Association between interleukin-6, C-reactive protein and adiponectin with adiposity: Findings from the 1993 Pelotas (Brazil) birth cohort at 18 and 22years. **Cytokine**, v. 110, p. 44-51, Apr 2018.

MEYER, J. et al. Dietary patterns, subclinical inflammation, incident coronary heart disease and mortality in middle-aged men from the MONICA/KORA Augsburg cohort study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, n. 7, p. 800-7, Jul 2011.

MOHAMED-ALI, V. et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 82, n. 12, p. 4196-200, Dec 1997.

MOHER, D. et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. **British Medical Journal**, v. 340, p. C869, Mar 2010.

MONTEIRO, C. A. et al. A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26, n. 11, p. 2039-49, Nov 2010.

_____. Increasing consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health: evidence from Brazil. **Public Health Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 5-13, Jan 2011.

_____. The Food System. *The big issue*. **World Nutrition**, v. 3, n. 12, p. 527-569, Dec 2012.

_____. Ultra-processed products are becoming dominant in the global food system. **Obesity Reviews**, v. 14, Suppl 2, p. 21-8, Nov 2013.

_____. NOVA. The star shines bright. [Food classification. Public health]. **World Nutrition**, v. 7, p. 28-38, Jan – Mar 2016.

_____. The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 5-17, Jan 2018°.

_____. Ultra-processing. An odd ‘appraisal’. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 497-501, Feb 2018b.

_____. Household availability of ultra-processed foods and obesity in nineteen European countries. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 18-26, Jan 2018c.

MOODIE, R. et al. Profits and pandemics: prevention of harmful effects of tobacco, alcohol, and ultra-processed food and drink industries. **The Lancet**, v. 381, n. 9867, p. 670-679, Feb 2013.

MOREIRA, P. V. et al. Comparing different policy scenarios to reduce the consumption of ultra-processed foods in UK: impact on cardiovascular disease mortality using a modelling approach. **PloS ONE**, v. 10, n. 2, p. E0118353, Feb 2015.

_____. Effects of reducing processed culinary ingredients and ultra-processed foods in the Brazilian diet: a cardiovascular modelling study. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 181-188, Jan 2018.

MORIERI, M. L. et al. Interleukin-6 “Trans-Signaling” and Ischemic Vascular Disease: The Important Role of Soluble gp130. **Mediators of Inflammation**, v. 2017, p. 1-6, Jan 2017.

MOUBARAC, J. C. et al. Food Classification Systems Based on Food Processing: Significance and Implications for Policies and Actions: A Systematic Literature Review and Assessment. **Current Obesity Reports**, v. 3, n. 2, p. 256-72, Jun 2014.

_____. Consumption of ultra-processed foods predicts diet quality in Canada. **Appetite**, v. 108, p. 512-20, Jan 2017.

NASREDDINE, L. et al. A minimally processed dietary pattern is associated with lower odds of metabolic syndrome among Lebanese adults. **Public Health Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 160-71, Jan 2018.

NAVARRO, S. L. et al. Cruciferous vegetables have variable effects on biomarkers of systemic inflammation in a randomized controlled trial in healthy young adults. **The Journal of Nutrition**, v. 144, n. 11, p. 1850-7, Nov 2014.

NETTLETON, J. A. et al. A priori-defined dietary patterns and markers of cardiovascular disease risk in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 1, p. 185-94, Jul 2008.

OLINTO, Maria Teresa Anselmo. Padrões alimentares: análise de componentes principais. In: KAC, Gilberto; SICHIERI, Rosely; GIGANTE, Denise Petrucci. **Epidemiologia nutricional**. Rio de Janeiro: Fiocruz/Atheneu, 2007. P. 181-200.

OLINTO, M. T. et al. Major dietary patterns and cardiovascular risk factors among young Brazilian adults. **European Journal of Nutrition**, v. 51, n. 3, p. 281-91, Apr 2012.

ONU. Organização das Nações Unidas. **Declaração Universal dos Direitos Humanos**. 1948. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/direitoshumanos/declaracao>>. Acesso em: 20 abr. 2018.

PAHO/WHO. **Ultra-Processed Food and Drink Products in Latin America: Trends, Impact on Obesity, Policy Implications**. Washington DC: Pan American Health Organization/World Health Organization, 2015. 76 p.

PAL, M. et al. From cytokine to myokine: the emerging role of interleukin-6 in metabolic regulation. **Immunology and Cell Biology**, v. 92, n. 4, p. 331-9, Apr 2014.

PANAGIOTAKOS, D. B. et al. Dairy products consumption is associated with decreased levels of inflammatory markers related to cardiovascular disease in apparently healthy adults: the ATTICA study. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 29, n. 4, p. 357-64, Aug 2010.

PEREIRA, Rosangela Alves; SICHIERI, Rosely. Métodos de Avaliação do Consumo de Alimentos. In: KAC, Gilberto; SICHIERI, Rosely; GIGANTE, Denise Petrucci. **Epidemiologia nutricional**. Rio de Janeiro: Fiocruz/Atheneu, 2007. P. 181-200.

Pinheiro, Ana Beatriz Vieira, Lacerda Elisa Maria de Aquino, Benzecry Esther Haim, Gomes Marisa Conceição da S., Costa Verônica Medeiros. **Tabela de avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 5.ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2005.

POPKIN, B. M. The nutrition transition and its health implications in lower-income countries. **Public Health Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 5-21, Mar 1998.

POTI, J. M. et al. Is the degree of food processing and convenience linked with the nutritional quality of foods purchased by US households? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 101, n. 6, p. 1251-62, Jun 2015.

_____. Highly Processed and Ready-to-Eat Packaged Food and Beverage Purchases Differ by Race/Ethnicity among US Households. **Journal of Nutrition**, v. 146, n. 9, p. 1722-30, Sep 2016.

_____. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What Really Matters for Health-Processing or Nutrient Content? **Current Obesity Reports**, v. 6, n. 4, p. 420-431, Dec 2017.

PRADHAN, A. D. et al. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. **Jama**, v. 286, n. 3, p. 327-34, Jul 2001.

QU, D. et al. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. **British Journal of Pharmacology**, v. 171, n. 15, p. 3595-603, Aug 2014.

RAUBER, F. et al. Consumption of ultra-processed food products and its effects on children's lipid profiles: a longitudinal study. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 25, n. 1, p. 116-22, Jan 2015.

_____. Ultra-Processed Food Consumption and Chronic Non-Communicable Diseases-Related Dietary Nutrient Profile in the UK (2008 – 2014). **Nutrients**, v. 10, n. 5, May 2018.

RAZQUIN, C. et al. A Mediterranean diet rich in virgin olive oil may reverse the effects of the -174G/C IL6 gene variant on 3-year body weight change. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 54 Suppl 1, p. S75-82, May 2010.

RIBEIRO, A. L. et al. Cardiovascular Health in Brazil: Trends and Perspectives. **Circulation**, v. 133, n. 4, p. 422-33, Jan 2016.

ROOT, M. M. et al. Combined fruit and vegetable intake is correlated with improved inflammatory and oxidant status from a cross-sectional study in a community setting. **Nutrients**, v. 4, n. 1, p. 29-41, Jan 2012.

ROSE-JOHN, S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. **International Journal of Biological Sciences**, v. 8, n. 9, p. 1237-47, Oct 2012.

ROTH, G. A. et al. Global, Regional, and National Burden of Cardiovascular Diseases for 10 Causes, 1990 to 2015. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 70, n. 1, p. 1-25, Jul 2017.

SALAS-SALVADO, J. et al. Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, n. 5, p. 651-9, May 2008.

SANTIAGO-TORRES, M. et al. Metabolic responses to a traditional Mexican diet compared with a commonly consumed US diet in women of Mexican descent: a randomized crossover feeding trial. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 103, n. 2, p. 366-74, Feb 2016.

SARTORI, A. G. D. O.; SILVA, M. V. D. Main food sources of carotenoids, according to the purpose and degree of processing, for beneficiaries of the 'Bolsa Família' in Brazil. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 34, n. 2, p. 408-15, Apr – Jun 2014°.

_____. Main Food Sources of Energy, Nutrients and Dietary Fiber, According to the Purpose and Degree of Processing, for Beneficiary Adolescents of the 'Bolsa Família' Program in Brazil. **Food and Public Health**, v. 4, n. 3, p. 151-61, 2014b.

SARWAR, N. et al. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. **The Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1205-13, Mar 2012.

SATIJA, A. et al. Understanding Nutritional Epidemiology and Its Role in Policy. **Advances in Nutrition**, v. 6, n. 1, p. 5-18, 2015.

SCHAPER, F.; ROSE-JOHN, S. Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 26, n. 5, p. 475-87, Oct 2015.

SHELLER, J. et al. Updating interleukin-6 classic- and trans-signaling. **Signal Transduction**, v. 6, n. 4, p. 240-259, Mar 2006.

_____. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1813, n. 5, p. 878-88, May 2011.

SCHNABEL, L. et al. Association Between Ultra-Processed Food Consumption and Functional Gastrointestinal Disorders: Results From the French NutriNet-Sante Cohort. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 113, n. 8, p. 1217-1228, Aug 2018.

SCHNABEL, R. B. et al. Multiple inflammatory biomarkers in relation to cardiovascular events and mortality in the community. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v. 33, n. 7, p. 1728-33, Jul 2013.

SCHNEIDER, B. C. et al. Design of a digital and self-reported food frequency questionnaire to estimate food consumption in adolescents and young adults: birth cohorts at Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 19, n. 2, p. 419-32, Jun 2016.

SCHWINGSHACKL, L.; HOFFMANN, G. Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: a systematic review and meta-analysis of intervention trials. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 24, n. 9, p. 929-39, Sep 2014.

SICHERI R. EVERHART JE. Validity of a Brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. **Nutrition Research**, v.18, n. 10, p. 1649-59, 1998.

SILVA, F. M. et al. Consumption of ultra-processed food and obesity: cross sectional results from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) cohort (2008-2010). **Public Health Nutrition**, Apr 2018.

SILVEIRA, B. K. S. et al. Dietary Pattern and Macronutrients Profile on the Variation of Inflammatory Biomarkers: Scientific Update. **Cardiology Research and Practice**, v. 2018, Mar 2018.

SMIDOWICZ, A.; REGULA, J. Effect of nutritional status and dietary patterns on human serum C-reactive protein and interleukin-6 concentrations. **Advances in Nutrition**, v. 6, n. 6, p. 738-47, Nov 2015.

SOLA, E. et al. Parameters of inflammation in morbid obesity: lack of effect of moderate weight loss. **Obesity Surgery**, v. 19, n. 5, p. 571-6, May 2009.

SOTOS-PRIETO, M. et al. Association between a Healthy Lifestyle Score and inflammatory markers among Puerto Rican adults. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 26, n. 3, p. 178-84, Mar 2016.

STEEMBURGO, T. et al. Interação entre gene e nutriente e sua associação à obesidade e ao diabetes melito. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 497-508, jul 2009.

STEENBERG, A. et al. Interleukin-6 production in contracting human skeletal muscle is influenced by pre-exercise muscle glycogen content. **Journal of Physiology**, v. 537, n. Pt 2, p. 633-9, Dec 2001.

SWERDLOW, D. I. et al. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomization analysis. **The Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1214-24, Mar 2012.

TABUNG, F. K. et al. An Empirical Dietary Inflammatory Pattern Score Enhances Prediction of Circulating Inflammatory Biomarkers in Adults. **The Journal of Nutrition**, v. 147, n. 8, p. 1567-77, Aug 2017.

TANAKA, T.; KISHIMOTO, T. The biology and medical implications of interleukin-6. **Cancer Immunology Research**, v. 2, n. 4, p. 288-94, Apr 2014.

TANAKA, T. et al. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 6, n. 10, Sep 4 2014.

_____. Regulation of IL-6 in Immunity and Diseases. In: Ma X. (eds) Regulation of Cytokine Gene Expression in Immunity and Diseases. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, vol. 941. Springer, Dordrecht. 2016

_____. Interleukin (IL-6) Immunotherapy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, Aug 2017.

TAVARES, L. F. et al. Relationship between ultra-processed foods and metabolic syndrome in adolescents from a Brazilian Family Doctor Program. **Public Health Nutrition**, v. 15, n. 1, p. 82-7, Jan 2012.

TIMPER, K. et al. IL-6 Improves Energy and Glucose Homeostasis in Obesity via Enhanced Central IL-6 trans-Signaling. **Cell Reports**, v. 19, n. 2, p. 267-280, Apr 2017.

VAN HALL, G. et al. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 7, p. 3005-10, Jul 2003.

VAN SNICK, J. Interleukin-6: an overview. **Annual Review of Immunology**, v. 8, p. 253-78, 1990.

VICTORA, C. G.; BARROS, F. C. Cohort profile: the 1982 Pelotas (Brazil) birth cohort study. **International Journal of Epidemiology**, v. 35, n. 2, p. 237-42, Apr 2006.

VON ELM, E. et al. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. **The Lancet**, v. 370, n. 9596, p. 1453-1457, 2007.

WALLENIUS, V. et al. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. **Nature Medicine**, v. 8, n. 1, p. 75-9, Jan 2002.

WANG, X. et al. Inflammatory markers and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 36, n. 1, p. 166-75, Jan 2013.

WANG, T. et al. Improving adherence to healthy dietary patterns, genetic risk, and long term weight gain: gene-diet interaction analysis in two prospective cohort studies. **British Medical Journal**, v. 360, p. J5644, Jan 2018.

WEISSENBACH, J. et al. Two interferon mRNAs in human fibroblasts: in vitro translation and Escherichia coli cloning studies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 77, n. 12, p. 7152-6, Dec 1980.

WHO. **Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases**. Geneva: World Health Organization, 2003. 160 p.

_____. **Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020.** Geneva: World Health Organization, 2013. 55 p.

_____. **Global Hearts Initiative Working together to beat cardiovascular disease.** Geneva: World Health Organization; 2016. 8 p.

_____. **HEARTS Technical package for cardiovascular disease management in primary health care: healthy-lifestyle counselling.** Geneva: World Health Organization, 2018. 30 p.

WILLETT, Walter C. Nutritional Epidemiology. In: ROTHMAN, Kenneth. J.; GREENLAND, Sander; LASH, Tomothy L. **Modern Epidemiology**. 3. Ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 2008. P. 1188- 205

YU, Z. et al. Associations between nut consumption and inflammatory biomarkers. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 104, n. 3, p. 722-8, Sep 2016.

YUDKIN, J. S. et al. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link? **Atherosclerosis**, v. 148, n. 2, p. 209-14, Feb 2000.

ZAGO, A. et al. Alcohol Use Disorder and Inflammatory Cytokines in a Population Sample of Young Adults. **Journal of Alcoholism & Drug Dependence**, v. 04, n. 02, Apr 2016.

ZHANG, J. M.; AN, J. Cytokines, inflammation, and pain. **International Anesthesiology Clinics**, v. 45, n. 2, p. 27-37, 2007.

ZHANG, F. F. et al. White blood cell global methylation and IL-6 promoter methylation in association with diet and lifestyle risk factors in a cancer-free population. **Epigenetics**, v. 7, n. 6, p. 606-14, Jun 1 2012.

ZINOCKER, M. K.; LINDSETH, I. A. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. **Nutrients**, v. 10, n. 365, Mar 2018.

SEÇÃO II. MODIFICAÇÕES DO PROJETO DE PESQUISA

Nesta seção serão detalhadas as alterações realizadas nos artigos propostos no projeto original, assim como, as justificativas para tais modificações.

O artigo original 1 foi planejado com objetivo de investigar fatores do início da vida até a idade adulta, associados com a concentração sérica de interleucina-6 aos 30 anos de idade na Coorte de Nascimentos de 1982 – Pelotas/RS. Dada a imprevisão para solução de problemas técnicos com o servidor para obtenção dos SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) necessários para elaboração do escore de risco poligênico, essa variável de exposição não pode ser incluída, sem comprometer o principal objetivo do artigo. No que diz respeito ao consumo de álcool, a partir das perguntas disponíveis no questionário, se utilizou a pontuação do AUDIT: the Alcohol Use Disorders Identification Test (World Health Organization. 2001. Alcohol Use Disorder Identification Test. Second Edi. World Health Organization, editor. Geneva).

O artigo original 2 permaneceu com o objetivo de avaliar longitudinalmente a associação entre consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6 sérica. Porém, com a concessão da Bolsa de Doutorado Sanduíche pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (processo 201725/2019-3) para o Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto – Portugal, foi possível incluir nesse artigo as análises de dados provenientes da coorte portuguesa *Epidemiological Health Investigation of Teenagers in Porto* – EPITeen, além da Coorte de Nascimentos de 1982 de Pelotas/RS - Brasil. Considerando que, no EPITeen não foi aplicado um questionário de frequência alimentar no acompanhamento dos 27 anos, quando foi mensurado a concentração sérica de interleucina-6, não foram construídas trajetórias de consumo de alimentos ultraprocessados. Salienta-se que, em sua maioria, os estudos longitudinais que investigaram a relação de alimentos ultraprocessados com desfechos em saúde consideraram uma única avaliação da exposição. Ainda, um único estudo de coorte identificado na literatura que avaliou duas mensurações da alimentação e de interleucina-6 sérica [(AKBARALY, T. N. *et al.*, 2015. Long-term adherence to healthy dietary guidelines and chronic inflammation in the prospective Whitehall II study. *The American Journal of Medicine*, 128(2)] encontrou que indivíduos que permaneceram com um elevado escore do *Alternative Healthy Eating Index* (AHEI) ou aumentaram esse escore, em um período de seis anos, apresentaram menor concentração média de IL-6 do que aqueles que permaneceram com baixos escores. Não foram observadas

mudanças na concentração sérica de IL-6 entre os participantes que decresceram o escore do AHEI. Esse resultado sugere que os efeitos adversos da alimentação sobre a concentração de IL-6 são detectáveis quando a exposição permanece por um longo período, sendo válida uma única avaliação da alimentação para a análise longitudinal proposta. Além disso, foi avaliado o papel mediador da adiposidade na associação entre consumo de alimentos ultraprocessados e interleucina-6. Dado a avaliação de duas coortes no artigo e um dos pressupostos da *G-formula*, que exige uma variável *post-confounder*, não foi incluída a análise considerando qualidade da alimentação como mediador.

SEÇÃO III. RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO



Universidade Federal de Pelotas
Faculdade de Medicina
Departamento de Medicina Social
Programa de Pós-graduação em Epidemiologia



RELATÓRIO DO TRABALHO DE CAMPO

CONSTRUÇÃO DO BANCO DE INTERLEUCINA-6

Coorte de Nascimentos de 1982 de Pelotas-RS: acompanhamento dos 30 anos

Novembro, 2017

1. QUANTIFICAÇÃO DE INTERLEUCINA- 6

A quantificação de interleucina 6 (IL-6) foi realizada por meio da técnica ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*) através do *kit* de reagentes Quantikine® HS ELISA Human IL-6 (*High Sensitivity*), da empresa R&D Systems, Inc. (*Minneapolis, Minesota, USA*), seguindo o protocolo descrito no Apêndice B.

2. ORGANIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS DE INTERLEUCINA-6

Após a conclusão das etapas de quantificação e leitura de interleucina-6, descritas no Apêndice B, as concentrações e demais informações obtidas através da leitura das placas no equipamento SPECTRAMAX® 190- Molecular DEVICES (*Sunnyvale, California, USA*) foram exportadas para arquivos em formato Excel, PDF e em formato específico para o programa da leitora. Os principais resultados em formato PDF e Excel são apresentados nas Figuras 1, 2, 3 e 4 a seguir.

01-08-2017 PLACA A												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.001 -0.000	-0.001 0.000	0.559 0.021	0.572 0.024	1.657 0.059	1.670 0.060	1.213 0.049	1.280 0.048	0.522 0.020	0.569 0.024	0.516 0.020	0.530 0.021
B	0.040 0.001	0.036 0.002	0.181 0.008	0.177 0.009	1.023 0.037	1.005 0.040	0.556 0.020	0.578 0.024	0.672 0.026	0.715 0.028	0.499 0.024	0.485 0.018
C	0.081 0.005	0.080 0.005	0.594 0.022	0.568 0.021	0.295 0.011	0.297 0.015	0.550 0.021	0.567 0.022	0.311 0.013	0.335 0.016	0.258 0.011	0.269 0.012
D	0.169 0.007	0.151 0.006	0.347 0.012	0.346 0.014	0.258 0.012	0.241 0.008	0.374 0.016	0.356 0.014	0.454 0.022	0.438 0.018	0.372 0.016	0.395 0.016
E	0.327 0.012	0.286 0.011	0.430 0.016	0.430 0.017	0.608 0.024	0.597 0.025	0.182 0.009	0.192 0.009	2.025 0.072	2.077 0.078	0.176 0.008	0.173 0.013
F	0.651 0.025	0.627 0.021	0.617 0.021	0.609 0.023	0.336 0.014	0.320 0.014	0.132 0.006	0.135 0.007	0.257 0.011	0.242 0.011	0.387 0.015	0.364 0.015
G	1.330 0.046	1.309 0.049	0.356 0.014	0.382 0.014	0.219 0.008	0.232 0.012	0.320 0.013	0.341 0.017	0.785 0.028	0.768 0.034	0.241 0.009	0.254 0.010
H	2.643 0.095	2.474 0.094	0.262 0.009	0.260 0.010	0.432 0.014	0.421 0.017	0.468 0.018	0.461 0.018	0.188 0.009	0.176 0.009	0.161 0.006	0.171 0.006

Settings Information

- Endpoint
- Lm1 490
- Lm2 650
- More Settings
- Shake Off
- Calibrate On
- Column Priority

Read Information

- SpectraMax 190
- ROM v2.0.16 2012-01-31
- Start Read : 15:25 01/08/2017
- Mean Temperature : 26.6 °C

Reduction Settings

- Optical Density
- Plate Blank Used : Lm1 = 0.113, Lm2 = 0.037
- Wavelength Combination : !Lm1-!Lm2

Figura 1: Ilustração da placa do ELISA de inteleucina-6 em arquivo formato PDF, Coorte de 1982, Pelotas/RS.

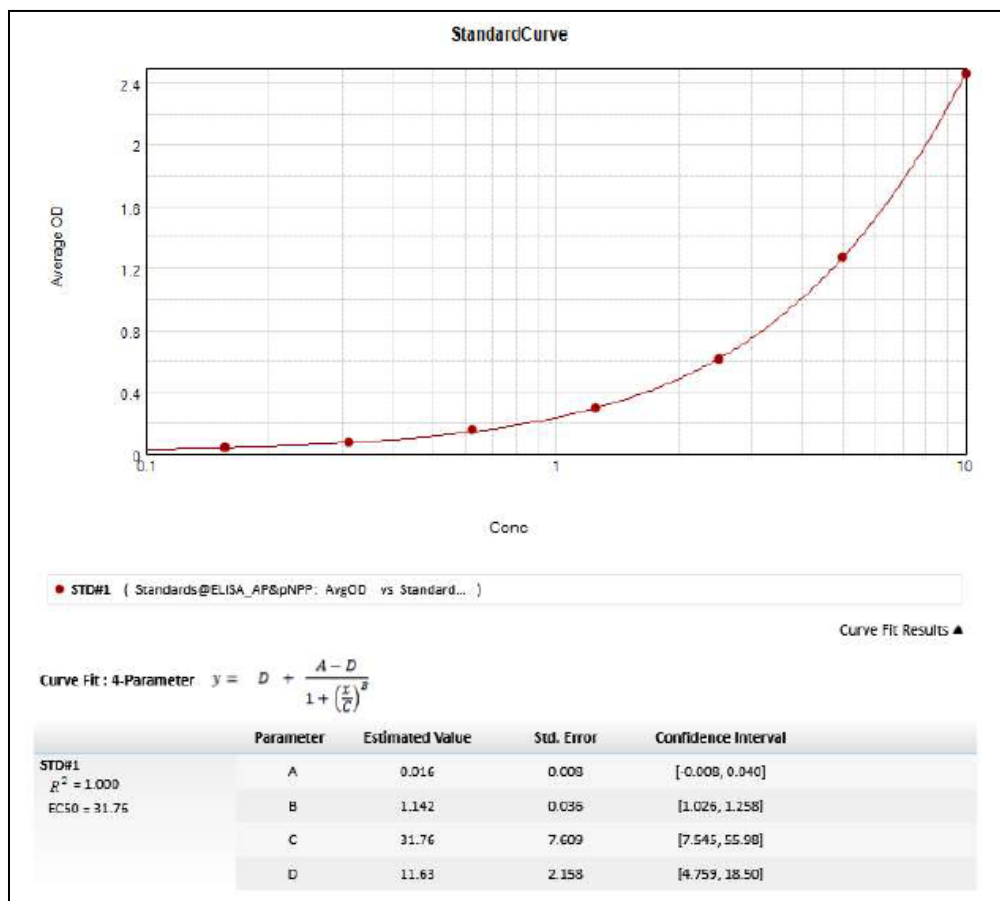


Figura 2: Ilustração da curva padrão (4PL) de inteleucina-6 em arquivo formato PDF, Coorte de 1982, Pelotas/RS.

PLACA ELISA A 01/08/2017												N. Coorte	ID Lab	Pontos da curva
A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12			
0	0	195	195	204	204	213	213	221	221	229	229			
B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12			
0.156	0.156	196	196	205	205	214	214	222	222	230	230			
pg/mL	pg/mL													
C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12			
0.313	0.313	198	198	207	207	215	215	223	223	232	232			
pg/mL	pg/mL													
D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10	D11	D12			
0.625	0.625	199	199	208	208	216	216	224	224	233	233			
pg/mL	pg/mL													
E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12			
1,250	1,250	200	200	209	209	217	217	225	225	234	234			
pg/mL	pg/mL													
F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12			
2,500	2,500	201	201	210	210	218	218	226	226	235	235			
pg/mL	pg/mL													
G1	G2	G3	G4	G5	G6	G7	G8	G9	G10	G11	G12			
5	5	202	202	211	211	219	219	227	227	237	237			
pg/mL	pg/mL													
H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12			
10	10	203	203	212	212	220	220	228	228	INTER	INTER			
pg/mL	pg/mL									828282	828282			

FIGURA 3: Ilustração da placa do ELISA de inteleucina-6 em arquivo formato Excel, Coorte de 1982, Pelotas/RS.

Group: Standards							
Sample	Standard	BackCalc	Wells	OD	AvgOD	SD	CV
1	0.156	0.137	B1	0.039	0.036	0.003	8.9
		0.113	B2	0.034			
2	0.313	0.331	C1	0.079	0.077	0.003	3.9
		0.312	C2	0.075			
3	0.625	0.699	D1	0.163	0.154	0.012	8.1
		0.625	D2	0.145			
4	1,250	1,319	E1	0.315	0.295	0.028	9.6
		1,160	E2	0.275			
5	2,500	2,524	F1	0.626	0.616	0.015	2.4
		2,445	F2	0.605			
6	5,000	5,055	G1	1,284	1,272	0.016	1.3
		4,964	G2	1,261			
7	10,000	10,381	H1	2,548	2,464	0.119	4.8
		9,621	H2	2,380			
Group Summaries							
MinStd	Smallest s	0.036	Min(AvgOD)				
MaxStd	Largest sta	2,464	Max(AvgOD)				
~End							
Group: UnknownsNoDiln							
Sample	Wells	OD	R	Conc	AvgConc	SD	CV
	D3	0.335		1,399	1,393	0.008	0.6
	D4	0.332		1,387			
	E9	1,953		7,768	7,866	0.138	1.8
	E10	1,999		7,963			
	F7	0.127		0.546	0.549	0.004	0.8
	F8	0.128		0.552			
	E11	0.168		0.721	0.705	0.023	3.2
	E12	0.16		0.689			
	A7	1,164		4,589	4,722	0.188	4
	A8	1,233		4,855			
	C3	0.572		2,319	2,270	0.069	3
	C4	0.547		2,222			
	A5	1,598		6,303	6,326	0.033	0.5
	A6	1,609		6,349			
	B5	0.986		3,899	3,858	0.058	1.5
	B6	0.964		3,816			
	A3	0.538		2,187	2,206	0.027	1.2

Figura 4: Ilustração dos resultados da placa do ELISA de inteleucina-6 em arquivo formato Excel, Coorte de 1982, Pelotas/RS

Na planilha da Figura 4 constam as informações relevantes para construção do banco de dados. Em amarelo foram destacados os resultados nos pontos da curva padrão e em cinza, os resultados para os participantes da Coorte. Na planilha pode ser observado o número de identificação de cada participante da coorte (Sample), a posição da duplicata de cada indivíduo na placa (Wells), a densidade óptica (OD), os valores estimados da concentração de IL-6 (Conc), a média da concentração (AvgConc), o desvio-padrão (SD) e o coeficiente de variação (CV) referente às duplicatas para cada indivíduo pertencente à amostra.

O primeiro banco construído incluiu os valores de concentração estimados das amostras, com base na curva logística de quatro parâmetros (4PL) que é a mais adequada para essa estimativa, de acordo com as informações do fabricante. Adicionalmente, realizou-se a estimativa dos valores da concentração por regressão linear a partir da conversão para logaritmo dos valores de densidade óptica e das concentrações conhecidas da curva.

2.1 Organização do banco de dados em 4 parâmetros

O primeiro passo para organização do banco de dados foi a construção de planilhas no Excel, para cada placa, com as informações pertinentes. A Figura 5 ilustra estes dados.

Dup	Idbanco	Idcoorte	Wells	OD	Conc	AvgConc	dp	cv
1			D3	0.335	1.399	1.393	0.008	0.6
2			D4	0.332	1.387			
1			E9	1.953	7.768	7.866	0.138	1.8
2			E10	1.999	7.963			
1			F7	0.127	0.546	0.549	0.004	0.8
2			F8	0.128	0.552			
1			E11	0.168	0.721	0.705	0.023	3.2
2			E12	0.160	0.689			
1			A7	1.164	4.589	4.722	0.188	4
2			A8	1.233	4.855			
1			C3	0.572	2.319	2.270	0.069	3
2			C4	0.547	2.222			
1			A5	1.598	6.303	6.326	0.033	0.5
2			A6	1.609	6.349			
1			B5	0.986	3.899	3.858	0.058	1.5
2			B6	0.964	3.816			
1			A3	0.538	2.187	2.206	0.027	1.2
2			A4	0.548	2.225			
1			F5	0.322	1.349	1.315	0.048	3.6
2			F6	0.305	1.281			

Figura 5: Ilustração do banco de dados construído no Excel com base no modelo logístico de quatro parâmetros, Coorte de 1982, Pelotas/RS.

Para cada placa há as seguintes informações: duplicata (Dup), número de identificação no banco (Idbanco), número de identificação na Coorte (Idcoorte), posição da duplicata de cada indivíduo na placa (Wells), densidade óptica (OD), valores estimados da concentração de IL-6 (Conc), média da concentração (AvgConc), desvio-padrão (SD) e coeficiente de variação (CV). As sete últimas variáveis foram extraídas da planilha na Figura 4.

Para exportação dos dados do Excel para o programa STATA, todos os valores das planilhas precisaram ter ponto “.” como separador decimal. Para isso, primeiramente foi realizada a alteração no programa Excel, em: Opções Excel → Avançado → Alterar separador decimal para ponto “.” e separador de milhar para vírgula “,” → Deixar opção “*Usar separadores do sistema*” desmarcado.

Para aquelas planilhas em que, mesmo após a alteração, os valores das variáveis não foram importados corretamente no programa STATA e para as variáveis densidade óptica, valores estimados da concentração de IL-6 e média da concentração utilizou-se a seguinte fórmula para alterar a vírgula por ponto: $=SE(F2>1; F2/1000; F2)$, sendo F2 referente a coluna dos dados aos quais pretende-se realizar padronização em três casas decimais, no caso das três variáveis supracitadas. Estas planilhas foram arquivadas em pastas referentes a cada um dos meses de ensaio e nomeadas como no exemplo: 01-08-2017 4PL Elisa82 Placa A-193 a 232 -30 anos.

2.2 Organização do banco de dados em escala logarítmica

A Figura 6 ilustra a planilha em Excel com as informações necessárias para construção do banco em escala logarítmica, destacados em amarelo os resultados nos pontos da curva padrão e em cinza, para os participantes da Coorte. Nesse arquivo há informação para as seguintes variáveis: número de identificação no banco (Idbanco); número de identificação na coorte (Sample); duplicata (Dup); valores estimados da concentração de IL-6 (Conc); posição da duplicata de cada indivíduo na placa (Wells) e; densidade óptica (Value).

Foi realizado o mesmo procedimento descrito anteriormente para que “.” fosse o separador decimal e estas planilhas pudessem ser arquivadas em pastas para cada mês de ensaio e nomeadas como no exemplo: BANCO 01082017 PLA 193-232.

ldbanco	Sample	Dup	Conc	Wells	Value
	1	1	0.156	B1	0.039
	1	2		B2	0.034
	2	1	0.313	C1	0.079
	2	2		C2	0.075
	3	1	0.625	D1	0.163
	3	2		D2	0.145
	4	1	1.250	E1	0.315
	4	2		E2	0.275
	5	1	2.500	F1	0.626
	5	2		F2	0.605
	6	1	5.000	G1	1.284
	6	2		G2	1.261
	7	1	10.000	H1	2.548
	7	2		H2	2.38
		1		D3	0.335
		2		D4	0.332
		1		E9	1.953
		2		E10	1.999
		1		F7	0.127
		2		F8	0.128
		1		E11	0.168
		2		E12	0.16

Figura 6: Ilustração do banco de dados construído em escala logarítmica no Excel, coorte de 1982, Pelotas/RS.

2.3 Importação para o programa STATA

Cada arquivo em Excel (separado por placa) foi importado para o programa e salvo no formato do STATA. Criou-se um *do-file* com todos os passos e comandos utilizados para importação, organização das variáveis e criação do banco final.

Para construção do banco final excluíram-se todas as amostras intra- e inter-ensaio. Na sequência, foram incluídas as observações da planilha do laboratório (amostras com hemólise, fibrina e/ou lipêmica), utilizando o comando *merge* para reunir os dois bancos, com o número de coorte como variável identificadora. Com este procedimento identificou-se uma digitação incorreta do número de coorte na placa, a qual foi solucionada enviando esta informação às responsáveis pelas dosagens no laboratório, para que o número de coorte correto fosse colocado no arquivo da placa e consequentemente no banco de dados.

Também foram construídos dois bancos finais, apenas com as informações da amostra intra-ensaio (ID's: 888881; 888882; 888883; 888884; 888885; 888886; 888887; 888888), sendo oito amostras na placa A do dia 28 de julho de 2017 e das amostras inter-ensaio (ID: 828282) localizadas nos dois últimos poços de cada placa.

SEÇÃO IV. ARTIGOS

ARTIGO DE REVISÃO

Publicado na Revista de Saúde Pública

<http://dx.doi.org/10.11606/s1518-8787.2020054001704>

Processamento de alimentos e fatores de risco cardiometabólicos: revisão sistemática

Francine Silva dos Santos^I, Mariane da Silva Dias^I, Gicele Costa Mintem^{II}, Isabel Oliveira de Oliveira^I, Denise Petrucci Gigante^I

^IUniversidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-graduação em Epidemiologia. Departamento de Medicina Social. Pelotas, RS, Brasil.

^{II}Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Nutrição. Departamento de Nutrição. Pelotas, RS, Brasil.

Correspondência: Denise Petrucci Gigante. Universidade Federal de Pelotas. Programa de Pós-graduação em Epidemiologia. Rua Marechal Deodoro, 1160. CEP 96020-220. Centro, Pelotas, RS. E-mail: denisepgigante@gmail.com

RESUMO

Objetivo: Revisar sistematicamente as evidências da associação entre consumo de alimentos de acordo com o processamento e fatores cardiometabólicos em adultos e idosos. **Métodos:** Dois avaliadores independentes analisaram as bases de dados eletrônicas *PubMed*, *Web of Science* e LILACS até dezembro de 2018. Os seguintes termos foram utilizados: (*convenience foods* OR *food processing* OR *highly-processed* OR *industrialized foods* OR *minimally-processed* OR *prepared foods* OR *processed foods* OR *ultra-processed* OR *ultraprocessed* OR *ultra processed* OR *unprocessed*) AND (*metabolic syndrome* OR *hypertension* OR *blood pressure* OR *diabetes mellitus* OR *glucose* OR *glycaemia* OR *insulin* OR *cholesterol* OR *triglycerides* OR *blood lipids* OR *overweight* OR *obesity*) AND (*adult* OR *adults* OR *adulthood* OR *aged* OR *elderly* OR *old*). Nos estudos incluídos foram avaliadas as qualidades metodológica e de evidência, além de extraídas informações para a síntese qualitativa. O protocolo foi aprovado no PROSPERO sob o número CRD42019119765. **Resultados:** Dos 6.423 estudos identificados após a remoção das duplicatas, onze preencheram os critérios de elegibilidade. A principal classificação de alimentos utilizada foi a NOVA. O consumo de alimentos ultraprocessados foi positivamente associado com excesso de peso e obesidade, hipertensão arterial e síndrome metabólica. Todos os artigos incluídos preencheram mais de 50% dos critérios de qualidade metodológica. A qualidade de evidência foi considerada moderada para o desfecho excesso de peso e obesidade e fraca para hipertensão arterial e síndrome metabólica. **Conclusões:** A classificação de alimentos NOVA se destaca na área da epidemiologia nutricional ao avaliar os efeitos do processamento de alimentos sobre desfechos em saúde. Embora seja necessário prudência na interpretação, os resultados indicam que o consumo de alimentos ultraprocessados pode ter impacto desfavorável sobre a saúde dos indivíduos.

Descritores: Consumo de alimentos. Alimentos industrializados. Doenças cardiovasculares. Fatores de risco. Epidemiologia nutricional. Adulto. Idoso. Revisão.

ABSTRACT

Objective: To systematically review the evidence of the association between food consumption according to processing and cardiometabolic factors in adults and the elderly. **Methods:** Two independent reviewers analyzed the electronic databases PubMed, Web of Science and LILACS until December 2018. The following terms were used: (*convenience foods OR food processing OR highly-processed OR industrialized foods OR minimally-processed OR prepared foods OR processed foods OR ultra-processed OR ultraprocessed OR ultra processed OR unprocessed*) AND (*metabolic syndrome OR hypertension OR blood pressure OR diabetes mellitus OR glucose OR glycaemia OR insulin OR cholesterol OR triglycerides OR blood lipids OR overweight OR obesity*) AND (*adult OR adults OR adulthood OR aged OR elderly OR old*). In the included studies were evaluated the methodological and evidence qualities, as well as extracting information for qualitative synthesis. The protocol was approved at PROSPERO under the number CRD42019119765. **Results:** Of the 6,423 studies identified after the removal of duplicates, eleven met the eligibility criteria. The main food classification used was NOVA. The consumption of ultra-processed foods was positively associated with overweight and obesity, hypertension and metabolic syndrome. All articles included met more than 50% of the methodological quality criteria. The quality of evidence was considered moderate for the overweight and obesity outcome and weak for hypertension and metabolic syndrome. **Conclusions:** The NOVA food classification stands out in the area of nutritional epidemiology when evaluating the effects of food processing on health outcomes. Although caution is required in interpretation, the results indicate that the consumption of ultra-processed foods may have an unfavourable impact on the health of individuals.

Keywords: Food consumption. Industrialized foods. Cardiovascular diseases. Risk factors. Nutritional epidemiology. Adult Aged. Review.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) compreendem a principal causa de mortalidade no mundo e aproximadamente três quartos dos óbitos ocorrem em países de baixa e média renda^{1, 2}. Os fatores de risco para DCV incluem fatores comportamentais, como alimentação não saudável, tabagismo, inatividade física e uso abusivo de álcool^{1, 3}. Como consequência do risco comportamental, os fatores cardiometabólicos mais frequentes são pressão arterial elevada (hipertensão), dislipidemias, hiperglicemia, excesso de peso e obesidade^{1, 3}.

A alimentação adequada e saudável de uma população envolve aspectos biológicos, ambientais, sociais, demográficos e econômicos⁴⁻⁶. Observam-se alterações dos hábitos alimentares em nível mundial, caracterizadas pelo domínio de produtos provenientes da indústria alimentícia⁶⁻⁸ e que não fazem parte dos sistemas de classificação de alimentos tradicionais⁹. Essas classificações tradicionais se restringem às propriedades biológicas da alimentação, ou seja, agrupam os alimentos em conformidade com os nutrientes presentes nos mesmos⁹.

O monitoramento do consumo alimentar colabora para execução do diagnóstico da situação alimentar e nutricional das populações e fornece subsídios para o planejamento e a organização dos serviços de saúde e a formulação de políticas e ações no âmbito da saúde pública¹⁰. Existem classificações de alimentos fundamentadas no processamento^{8, 11, 12}, mas não há uma síntese de evidências sobre a associação do consumo alimentar avaliado a partir dessas classificações e os fatores de risco para DCV, as quais são um grupo de enfermidades de extrema relevância mundial^{1, 3}. Dessa forma, pretende-se também contribuir para elucidar a importância dessas classificações no âmbito da epidemiologia nutricional e da

saúde pública. Assim, o objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática no que se refere ao consumo de alimentos de acordo com o processamento e identificar a associação com fatores cardiometabólicos em adultos e idosos.

MÉTODOS

O relato desta revisão sistemática seguiu o protocolo do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA)¹³. O protocolo de estudo foi submetido ao *International Prospective Register of Systematic Reviews* (PROSPERO), sendo aprovado sob o número CRD42019119765.

Estratégia de busca

As bases de dados eletrônicas *PubMed*, *Web of Science* e LILACS foram examinadas até dezembro de 2018. O intuito foi realizar uma investigação sistemática de estudos originais que avaliaram a associação entre o consumo de alimentos de acordo com o processamento e os fatores cardiometabólicos.

Para definir os termos de busca, além dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e *Medical Subject Headings* (MeSH) foi realizada uma investigação exploratória com o propósito de identificar palavras-chave consistentemente referidas em artigos da área. Sendo assim, foram utilizados os seguintes termos: (*convenience foods* OR *food processing* OR *highly-processed* OR *industrialized foods* OR *minimally-processed* OR *prepared foods* OR *processed foods* OR *ultra-processed* OR *ultraprocessed* OR *ultra processed* OR *unprocessed*) AND (*metabolic syndrome* OR *hypertension* OR *blood pressure* OR *diabetes mellitus* OR *glucose* OR *glycaemia* OR *insulin* OR *cholesterol* OR *triglycerides* OR *blood lipids* OR *overweight* OR *obesity*) AND (*adult* OR *adults* OR *adulthood* OR *aged* OR *elderly* OR *old*).

A Tabela 1 exemplifica a estratégia de busca nas bases de dados eletrônicas. Como pesquisa adicional, foram consideradas as referências bibliográficas dos artigos selecionados.

Crítérios de elegibilidade

Os estudos elegíveis deveriam apresentar os seguintes aspectos: I) ser artigo original; II) ser conduzido em humanos; III) tratar sobre avaliação da associação entre o consumo de alimentos de acordo com o processamento (exposição) e os fatores de risco cardiometabólicos (desfecho); IV) apresentar como população-alvo adultos e/ou idosos; e V) ser publicado em português, inglês ou espanhol. A operacionalização da exposição permitiu a inclusão de artigos que utilizaram sistema de classificação de alimentos que considera, o processamento industrial, para definição dos grupos de gêneros alimentícios.

Artigos que avaliaram o consumo de forma indireta por meio de dados de disponibilidade, aquisição ou comercialização de alimentos, além daqueles cuja população-alvo compreendia gestantes ou indivíduos com alguma condição de saúde especial, foram excluídos.

Seleção dos estudos

Dois avaliadores independentes realizaram a seleção dos artigos a serem incluídos. Frente a casos de discordância, um terceiro revisor conduziu o julgamento. Inicialmente as publicações foram importadas para o programa EndNote® versão X7, no qual foi procedida a verificação de duplicatas, seguida da leitura dos títulos e dos resumos. Os estudos selecionados nas etapas anteriores de acordo com os critérios de elegibilidade foram lidos na íntegra.

Avaliação da qualidade metodológica

A qualidade metodológica dos artigos selecionados foi avaliada de acordo com o *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE)¹⁴. Este compreende uma lista de verificação para estudos observacionais. A pontuação máxima a ser obtida é de 22 pontos, distribuídos da seguinte forma: título e/ou resumo (um item), introdução (dois itens), aspectos metodológicos (nove itens), resultados (cinco itens), discussão (quatro itens) e outras informações (um item – sobre financiamento)¹⁴. Cada um dos 22 itens recebeu a pontuação de 0 a 1 ao considerar se “não atende” ou “atende” cada critério, respectivamente. Com base na soma dessa pontuação foram estabelecidas três categorias para avaliação da qualidade: A – para os estudos que preencheram mais de 80% dos critérios, B – quando foram 50-80% dos critérios contemplados e C – quando menos de 50% dos critérios foram preenchidos¹⁵.

Avaliação da qualidade de evidência

A qualidade de evidência para a relação entre consumo de alimentos ultraprocessados (AUP) e cada desfecho foi procedida utilizando o Sistema *Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation* (GRADE)^{16, 17}. Assim, a classificação dos estudos foi realizada da seguinte forma: I) evidência alta (A), II) evidência moderada (B), III) evidência baixa (C) e IV) evidência muito baixa (D)^{16, 17}.

Estudos observacionais iniciam com qualidade de evidência baixa (C) e entre os fatores que elevam este nível de classificação são incluídos a presença de magnitude do efeito, de gradiente de dose-resposta e de confundidores plausíveis que possam reduzir o efeito demonstrado ou aumentar um efeito não observado.

Entre os aspectos que podem diminuir o nível de evidência são incluídos: a qualidade metodológica (risco de viés), inconsistência dos resultados, evidências indiretas, imprecisão e viés de publicação^{16, 17}.

Análise dos dados

A fim de realizar a síntese narrativa das características como, principais resultados e abordagem descritiva, as seguintes informações foram extraídas de cada artigo selecionado: nome do autor principal, ano de publicação e de coleta dos dados da pesquisa, país de realização do estudo, delineamento, caracterização e tamanho da amostra, método utilizado para mensurar a exposição, variáveis de ajuste na análise e principais resultados.

RESULTADOS

A estratégia de busca identificou um total de 7.216 publicações nas bases de dados eletrônicas *PubMed*, *Web of Science* e LILACS. Destas, 793 publicações eram duplicadas, as quais foram excluídas, resultando em 6.423 referências. Após a análise dos títulos, resumos, leitura na íntegra e aplicação dos critérios de elegibilidade, 11 estudos foram selecionados. Não houve inclusão de artigos através da busca adicional na lista de referências dos artigos selecionados. O fluxograma completo do processo de seleção é apresentado na Figura 1.

Características e Qualidade Metodológica dos estudos incluídos

As características e a qualidade metodológica das publicações incluídas na presente revisão são descritas na Tabela 2. A maioria dos estudos foi conduzida em países de renda alta (seis)¹⁸⁻²³, em contrapartida, países em desenvolvimento contribuíram com cinco publicações²⁴⁻²⁸, sendo três destas realizadas no Brasil^{24, 25, 27}. Quanto ao delineamento, mais de 80% eram transversais. Os dois estudos de

coorte identificados foram realizados com a mesma população, que consistia de participantes do projeto de Seguimento da Universidade de Navarra (SUN) na Espanha^{21, 22}.

Todos os artigos incluídos nessa revisão são recentes, publicados nos últimos cinco anos (entre 2015 e 2018) e a coleta de dados tinha ocorrido no período entre 2005 e 2015. Cinco estudos (46%) apresentaram um tamanho amostral superior a 10.000 participantes^{19, 21, 23, 25, 28} e a menor amostra identificada avaliou 302 indivíduos²⁶.

Segundo os critérios STROBE, é possível considerar que a qualidade metodológica dos artigos analisados foi satisfatória, com uma média geral de 17,5 pontos (pontuação mínima – 13²⁴; pontuação máxima – 21²⁷) e nenhum foi classificado com qualidade C. Seis^{18, 19, 21, 23, 26, 27} e cinco^{20, 22, 24, 25, 28} estudos foram considerados com qualidade A e B, respectivamente (Tabela 2).

Os fatores de risco cardiometabólico identificados foram excesso de peso ou obesidade (oito artigos^{18, 19, 22-25, 27, 28}) e hipertensão arterial (um artigo²¹). Dois estudos^{20, 26} que avaliaram síndrome metabólica e seus componentes foram incluídos, tendo em vista que esta condição é caracterizada pela presença simultânea dos desfechos de interesse desta revisão²⁹. Em ordem cronológica conforme a data de publicação do artigo, para cada variável dependente são apresentadas as seguintes características das unidades de análise: definição da exposição, variáveis de ajuste na análise e síntese dos principais resultados (Tabela 3).

Esse artigo identificou quatro diferentes métodos para avaliação da exposição, sendo que os mais frequentes foram o Questionário de Frequência

Alimentar (QFA)^{21, 22, 24, 26, 27} e o Recordatório de 24 horas^{19, 20, 23, 28}, utilizados em cinco e quatro publicações, respectivamente. Também foram identificadas pesquisas que avaliaram a exposição pelo Diário Alimentar¹⁸ e Registro Alimentar²⁵. A classificação NOVA esteve presente em nove estudos para definição de alimentos de acordo com processamento^{18-25, 27}. Outro artigo se baseou na NOVA para determinar os grupos de alimentos, executando a seguir uma análise fatorial exploratória, que identificou dois padrões alimentares: “padrão alimentos minimamente processados/processados” e “padrão alimentos ultraprocessados”²⁶. Por fim, uma publicação definiu como processados aqueles alimentos embalados, congelados, enlatados, ensacados e/ou empacotados²⁸. Salienta-se que dentre os grupos de alimentos propostos pela classificação NOVA, a associação entre consumo de AUP e os desfechos em saúde identificados foram avaliados por todas as pesquisas que utilizaram esta classificação, representando dez das onze pesquisas revisadas.

Embora tenha ocorrido certa homogeneidade na classificação dos alimentos segundo a extensão e o propósito do processamento, a operacionalização da exposição foi distinta entre os artigos analisados. A principal forma de avaliação foi o percentual na ingestão energética total dos grupos de interesse de cada estudo, sendo esse analisado na forma contínua^{18, 23, 28} e/ou categorizada em quartis ou quintis^{19, 20, 23, 25, 27}. Houve aqueles que consideraram o número de porções diárias^{21, 22}, o consumo maior ou igual a três vezes por dia²⁴ ou baseado na NOVA para identificação de padrões alimentares *a posteriori*²⁶.

Em relação aos possíveis confundidores da associação de interesse, apenas um artigo não ajustou para fatores socioeconômicos e demográficos, bem

como para nenhuma variável comportamental de risco cardiovascular, tais como atividade física, tabagismo e/ou consumo de bebidas alcoólicas²⁴. Outros cinco estudos^{20, 22, 25, 26, 28} embora tenham controlado para confundidores socioeconômicos, demográficos e comportamentais, forneceram apenas as estimativas após ajuste para possíveis mediadores como, por exemplo, a ingestão energética e o consumo de outros grupos de alimentos.

Excesso de peso ou obesidade

Oito publicações investigaram sobre consumo de alimentos de acordo com o processamento e excesso de peso, sobrepeso ou obesidade^{18, 19, 22-25, 27, 28}. A maior parte dos estudos incluiu mais de uma forma de definição do desfecho, porém as medidas de adiposidade consideraram apenas indicadores antropométricos, sendo que o índice de massa corporal (IMC) foi avaliado como uma variável contínua^{18, 19, 25, 27, 28} ou categorizada, IMC de 25 a 29,9 kg/m² (sobrepeso)^{23, 27}, IMC ≥ 30 kg/m² (obesidade)^{18, 19, 23, 25, 27} e IMC ≥ 25 kg/m² (excesso de peso – inclui sobrepeso e obesidade)^{18, 19, 22, 24, 25, 28}. Uma pesquisa considerou IMC ≥ 27 kg/m² como excesso de peso apenas para os participantes com 60 anos ou mais²⁴ e dois artigos também avaliariam obesidade abdominal pela aferição da circunferência da cintura (CC), definida como maior ou igual a 88 cm (mulheres) e 102 cm (homens)^{19, 27}.

Sete pesquisas constataram uma associação positiva entre o consumo de AUP com, no mínimo, uma das distintas metodologias de operacionalização do IMC^{19, 22-25, 27, 28} e obesidade abdominal^{19, 27}. Ademais, quatro artigos reportaram gradiente de dose-resposta para esta associação^{19, 22, 23, 27}, ou seja, quanto maior a categoria de consumo dos AUP, maiores as médias de IMC (kg/m²)^{19, 27} e CC (cm)¹⁹.

²⁷ e, mais elevado o risco de sobrepeso²⁷, obesidade^{19, 23, 27}, excesso de peso^{19, 22} ou obesidade abdominal^{19, 27}. Apenas um estudo não observou uma relação estatisticamente significativa para consumo de AUP e as medidas de adiposidade¹⁸. Entretanto, o maior consumo de ingredientes culinários processados (ICP) ou a combinação destes com os alimentos minimamente processados (AMP) conferiram proteção para o desfecho avaliado¹⁸. Finalmente, o consumo de AUP foi associado com elevado IMC apenas entre os participantes nas faixas etárias de 40 a 59 anos e maior igual a 60 anos em uma amostra representativa da população brasileira²⁵.

Hipertensão arterial

Apenas um artigo avaliou como desfecho principal a hipertensão arterial, tendo sido observado que o maior consumo de AUP (3º tercil de consumo comparado ao 1º tercil) aumenta a incidência de hipertensão arterial (HR = 1,21; IC95% 1,06–1.37)²¹ (Tabela 3).

Síndrome Metabólica e componentes

Dois estudos avaliaram a associação entre a exposição de interesse desta revisão e a síndrome metabólica^{20, 26}. Conforme a Tabela 3, em um artigo cuja população-alvo incluiu indígenas canadenses, foi demonstrada uma associação positiva entre o consumo de AUP e o desfecho (RO = 1,90; IC95% 1,14; 3,17)²⁰. Todavia, outra pesquisa com adultos libaneses não verificou relação significativa entre o “padrão alimentos ultraprocessados” e a síndrome metabólica (RO = 1,11; IC95% 0,26; 4,65)²⁷. O maior consumo do “padrão minimamente processado/processado” foi um fator de proteção (RO = 0,18; IC95% 0,04; 0,77)²⁶ para este desfecho. Nas análises que consideraram a presença de cada componente da síndrome metabólica, verificou-se que o consumo de AUP aumenta

o risco de baixo colesterol HDL²⁰, enquanto, o consumo do “padrão alimentos minimamente processados/processados” reduz a chance para baixo colesterol HDL e hiperglicemia²⁶.

Além da heterogeneidade da população-alvo e da definição da exposição, houve diferença também no tamanho amostral e nos métodos para coletar os dados de consumo, os quais foram obtidos através do Recordatório de 24 horas²⁰ e do QFA²⁶, respectivamente. A mesma referência foi utilizada em ambos os estudos para definição de síndrome metabólica²⁹.

Qualidade de evidência

A Tabela 4 apresenta a análise da qualidade de evidência de acordo com o sistema GRADE^{16, 17}. Todos os estudos incluídos foram observacionais e partiram de um nível de evidência baixo (C). Por se tratar de um artigo de revisão sistemática as evidências são indiretas, não sendo descartada a possibilidade de viés de publicação; não foram identificadas largas magnitudes de efeito; limitações metodológicas consideráveis não foram verificadas nos artigos revisados, os quais, em sua maioria, foram ajustados para fatores plausíveis de confusão; e os tamanhos amostrais permitiram precisão dos resultados. Para a associação positiva entre consumo de AUP e excesso de peso ou obesidade, em quatro estudos foi reportado um gradiente de dose-resposta, com resultados consistentes, sendo assim, a classificação foi elevada para um nível de evidência moderado (B). Para relação entre consumo de AUP e os desfechos de hipertensão arterial e de síndrome metabólica, o nível de evidência se manteve baixo (C).

DISCUSSÃO

Esta revisão sistemática identificou e sumarizou os resultados de onze estudos que avaliaram a associação entre o consumo de alimentos, de acordo com o processamento, e fatores cardiometabólicos em adultos e/ou idosos. Três desfechos foram verificados: excesso de peso ou obesidade; hipertensão arterial; e síndrome metabólica. De acordo com os artigos revisados, o nível de evidência foi considerado moderado para o primeiro desfecho e baixo para as demais morbidades avaliadas.

Trata-se da primeira revisão sistemática de conhecimento dos autores, em que foi proposta a avaliação do consumo de alimentos de acordo com o processamento e desfechos cardiometabólicos, considerando as classificações de alimentos definidas *a priori*. É importante salientar que esta revisão não restringiu a busca para uma determinada classificação de alimentos. Contudo, com destaque para o grupo AUP, a NOVA foi utilizada em dez dos onze estudos incluídos. Possivelmente devido ao reconhecimento internacional desta classificação de alimentos e sua validade no campo da saúde pública e da epidemiologia nutricional^{8, 9, 30, 31}. A NOVA considera atributos nutricionais e não nutricionais dos alimentos que, por sua vez, podem influenciar o comportamento alimentar, a qualidade nutricional da alimentação e os desfechos em saúde¹⁹. Ressalta-se que o Brasil foi pioneiro ao utilizar a NOVA para respaldar as diretrizes nacionais de alimentação e nutrição⁴.

O perfil nutricional desfavorável relacionado ao consumo de AUP, o qual tem impacto na qualidade nutricional da alimentação³², possivelmente estimula a execução de pesquisas que avaliam a repercussão do consumo deste grupo de

alimentos em desfechos negativos à saúde. Assim, é factível a inferência de plausibilidade biológica, tendo em vista que a ingestão elevada de AUP caracteriza uma alimentação com maiores concentrações de sódio, açúcar, gorduras totais e saturadas, reduzido teor de fibras e proteínas, altamente energética^{18, 33-37}, maior índice glicêmico³⁸ e que promove um processo inflamatório decorrente das alterações na composição e metabolismo da microbiota intestinal, favorecendo desordens metabólicas³⁹. Outros dois artigos verificaram efeito protetor do consumo de alimentos minimamente processados e processados para excesso de peso¹⁸, síndrome metabólica e alguns de seus componentes (hiperglicemia e baixo colesterol HDL)²⁶.

As evidências disponíveis para excesso de peso ou obesidade foram largamente mais abundantes em relação às demais variáveis dependentes identificadas, de tal modo que foram identificados oito estudos^{18, 19, 22-25, 27, 28}. A única pesquisa que não reportou associação positiva entre consumo de AUP e o desfecho referido, analisou em conjunto dois grupos da NOVA (alimentos processados e ultraprocessados)¹⁸, o que pode ter contribuído para que não tenha sido encontrada associação. Após o período estipulado para inclusão de artigos nesta revisão foram divulgados os resultados de um ensaio clínico randomizado com metodologia *crossover*, o qual verificou aumento de peso corporal e ingestão energética dos participantes durante as duas semanas que mantiveram a dieta com consumo de AUP⁴⁰. Sendo assim, a associação positiva reportada por esta revisão e com nível de evidência considerado moderado, corrobora com os resultados de um recente ensaio clínico⁴⁰, tipo de delineamento que pode elevar o nível de evidência^{16, 17}. Cabe citar que uma associação na mesma direção foi encontrada em dois^{41, 42} de

três artigos transversais^{34, 41, 42} que foram excluídos dessa revisão, uma vez que as medidas antropométricas de adiposidade foram analisadas como exposição para o consumo de AUP. Estudos prévios de revisão narrativa sobre consumo de AUP e obesidade⁴³ e revisão sistemática sobre consumo de AUP e adiposidade corporal durante a infância e adolescência⁴⁴ reforçam os resultados de que os alimentos pertencentes a este grupo podem contribuir para elevar a adiposidade corporal.

Para hipertensão arterial e síndrome metabólica foram identificados, respectivamente, um²¹ e dois^{20, 26} artigos. As três pesquisas apontaram que o consumo de AUP aumentou o risco para os desfechos avaliados^{20, 21, 26}. O nível de evidência foi baixo, tendo em vista que não há estudos suficientes para garantir confiança nos resultados. Em um dos artigos²⁶ com síndrome metabólica como desfecho, a exposição foi “padrão alimentos ultraprocessados”. E, embora a NOVA tenha sido utilizada para definir os grupos de alimentos, a análise fatorial exploratória acrescentou alimentos que não pertencem aos AUP neste padrão, o que levou à conclusão de que o efeito pode ter sido diluído, com um intervalo de confiança que incluiu a unidade²⁶.

Em virtude da heterogeneidade na operacionalização das variáveis de exposição e desfecho foi inviável realizar uma síntese quantitativa (meta-análise). Tal fato, introduz uma limitação na sumarização desses resultados. Ainda como limitação desta revisão, cabe ressaltar que todos os artigos incluídos apresentaram delineamento observacional. Salienta-se ainda, que estudos experimentais são justificáveis frente a consideráveis evidências observacionais⁴⁵, e a escassez deste tipo de delineamento pode ser explicada pelas recentes datas de publicação dos estudos observacionais identificados. Ainda, as dificuldades logísticas do tempo

entre a exposição e a incidência dos desfechos, somadas aos motivos éticos que contribuem para limitar a quantidade de referências experimentais que avaliam a repercussão da alimentação sobre a saúde em humanos⁴⁵ precisam ser consideradas. A maior dificuldade na publicação de estudos com resultados negativos ou sem associação e a restrição de idioma na seleção dos artigos¹⁷ poderiam levar ao viés de publicação, uma vez que a busca foi realizada em base de dados eletrônicas indexadas. No entanto, não se tem conhecimento de resultados negativos entre os pesquisadores brasileiros que desenvolvem seus trabalhos nessa área do conhecimento.

Os estudos incluídos são majoritariamente de delineamento transversal, o que não permite inferir causalidade para os resultados encontrados e ainda precisam ser consideradas as limitações inerentes à epidemiologia nutricional, dada a complexidade da alimentação humana e a dificuldade de conhecer com exatidão o real consumo alimentar dos indivíduos⁴⁵. Com o intuito de garantir maior consistência dos resultados foram elegíveis apenas pesquisas que avaliaram o consumo alimentar em nível individual. Por fim, cabe destacar que a principal limitação relatada nos estudos incluídos nessa revisão foi referida a coleta de dados da exposição, pois os instrumentos não foram elaborados para obter informações de consumo de acordo com a extensão e o propósito do processamento dos alimentos. Considerando que este é um erro de classificação não diferencial, é possível que os resultados dos estudos tenham apresentado subestimativa das magnitudes de associação.

Quanto aos cinco estudos^{20, 22, 25, 26, 28} que apresentaram apenas estimativas controladas para possíveis mediadores, com as abordagens utilizadas, esse ajuste

pode conduzir à subestimação da medida de associação ou introduzir viés de colisão na presença de confundidores entre o medidor e o desfecho⁴⁶. A associação entre consumo de AUP e fatores cardiometabólicos não deve diferir entre populações no sentido biológico. Mas, cabe salientar que variáveis socioeconômicas e comportamentais são importantes fatores de confusão. No que se refere à extrapolação dos resultados, houve informação proveniente de países de renda média e alta para os desfechos excesso de peso ou obesidade, através de estudos com diferentes delineamentos epidemiológicos, os quais apresentaram consistência nas distintas populações avaliadas. Tais fatos permitem maior confiança na generalização dos resultados para países com diversificadas características socioeconômicas e comportamentais e reduzem a possibilidade de que essa associação seja decorrente do acaso ou de confusão residual. Para os demais desfechos (hipertensão e síndrome metabólica) deve existir prudência na generalização. Ademais, ressalta-se que a proposta foi revisar artigos cuja população-alvo era constituída de adultos e/ou idosos. Dentre os artigos que incluíram ambas as faixas etárias, apenas dois estudos^{25, 28} informaram o número de participantes em cada uma delas. Acredita-se que a maioria dos dados seja de indivíduos adultos, sugerindo que as conclusões seriam mais adequadas para essa faixa etária.

A fim de elevar o nível de evidências, garantir a temporalidade, e a consistência dos resultados em diferentes cenários de confundimento seriam recomendados outros estudos que, mantendo a qualidade metodológica satisfatória identificada nos artigos incluídos nesta revisão, apresentassem delineamentos

longitudinais. Outras pesquisas que investiguem as consequências da exposição aos demais grupos de alimentos da NOVA também são sugeridas.

A partir desta revisão é possível concluir que a classificação de alimentos NOVA se destaca na área da epidemiologia nutricional que tem avaliado o papel do processamento de alimentos e os desfechos em saúde, sendo os AUP mais largamente estudados em relação aos demais grupos de alimentos que compõem essa classificação. Resultados apresentados nessa revisão permitem supor que o consumo de AUP pode ter impacto desfavorável à saúde dos indivíduos, sobretudo contribuindo para elevar o IMC. Tendo em vista o conhecimento que a alimentação é um fator de risco cardiovascular passível de modificação; que os desfechos avaliados nos estudos revisados compreenderam fatores cardiometabólicos¹; além do impacto já descrito dos AUP na mortalidade por doenças cardiovasculares no Reino Unido⁴⁷ e no Brasil⁴⁸, o presente estudo poderá contribuir para o fortalecimento das evidências científicas que fundamentam as políticas públicas relacionadas à área de alimentação e nutrição e ao enfrentamento das doenças cardiovasculares. No intuito de reduzir o consumo de AUP da população, o Brasil tem apresentado importantes avanços⁴, mas ainda há diversos desafios a serem alcançados nacional e internacionalmente⁴⁹.

Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – bolsa de doutorado às autoras FSS e MSD.

Contribuição dos Autores: Concepção e planejamento do estudo: FSS, GCM, IOO, DPG. Coleta, análise e interpretação dos dados: FSS, MSD. Elaboração do manuscrito: FSS, GCM, IOO, DPG. Aprovação da versão final: FSS, MSD, GCM,

IOO, DPG. Responsabilidade pública pelo conteúdo do artigo: FSS, MSD, GCM, IOO, DPG.

Conflito de interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. HEARTS Technical package for cardiovascular disease management in primary health care: healthy-lifestyle counselling. Geneva: WHO; 2018. Disponível em: <http://www.who.int/iris/handle/10665/260422>
2. Thomas H, Diamond J, Vieco A, Chaudhuri S, Shinnar E, Cromer S, et al. Global Atlas of Cardiovascular Disease 2000-2016: The Path to Prevention and Control. *Global heart*. 2018;13(3):143-63. DOI: 10.1016/j.gheart.2018.09.511
3. World Health Organization. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. Genova: WHO; 2013. Disponível em: <https://www.who.int/nmh/publications/ncd-action-plan/en/>
4. Brasil. Ministério da Saúde. Guia alimentar para a população brasileira. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde; 2014. p. 156. Disponível em: http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf
5. Lock K, Smith RD, Dangour AD, Keogh-Brown M, Pigatto G, Hawkes C, et al. Health, agricultural, and economic effects of adoption of healthy diet recommendations. *The Lancet*. 2010;376(9753):1699-709. DOI:10.1016/S0140-6736(10)61352-9

6. Popkin BM. The nutrition transition and its health implications in lower-income countries. *Public Health Nutr.* 1998;1(1):5-21. DOI:10.1079/PHN19980004
7. Moodie R, Stuckler D, Monteiro C, Sheron N, Neal B, Thamarangsi T, et al. Profits and pandemics: prevention of harmful effects of tobacco, alcohol, and ultra-processed food and drink industries. *The Lancet.* 2013;381(9867):670-9. DOI: 10.1016/s0140-6736(12)62089-3
8. Moubarac JC, Parra DC, Cannon G, Monteiro CA. Food Classification Systems Based on Food Processing: Significance and Implications for Policies and Actions: A Systematic Literature Review and Assessment. *Curr Obes Rep.* 2014;3(2):256-72. DOI: 10.1007/s13679-014-0092-0
9. Monteiro CA, Cannon G, Moubarac JC, Levy RB, Louzada MLC, Jaime PC. The UN Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):5-17. DOI: 10.1017/S1368980017000234
10. Brasil. Ministério da Saúde. Orientações para avaliação de marcadores de consumo alimentar na atenção básica. Departamento de Atenção Básica. Brasília: Ministério da Saúde; 2015. p. 33. Disponível em:http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/marcadores_consumo_alimentar_atencao_basica.pdf
11. Sartori AGdO, Silva MVd. Main Food Sources of Energy, Nutrients and Dietary Fiber, According to the Purpose and Degree of Processing, for Beneficiary Adolescents of the 'Bolsa Família' Program in Brazil. *Food and Public Health.* 2014;4(3):151-61. DOI: 10.5923/j.fph.20140403.10

12. Poti JM, Mendez MA, Ng SW, Popkin BM. Is the degree of food processing and convenience linked with the nutritional quality of foods purchased by US households? *Am J Clin Nutr.* 2015;101(6):1251-62. DOI: 10.3945/ajcn.114.100925
13. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Gherzi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev.* 2015;4:1. DOI: 10.1186/2046-4053-4-1
14. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *The Lancet.* 2007;370(9596):1453-7. DOI: 10.1016/s0140-6736(07)61602-x
15. Silva DFO, Lyra CO, Lima SCVC. Padrões alimentares de adolescentes e associação com fatores de risco cardiovascular: uma revisão sistemática. *Ciênc saúde coletiva.* 2016;21(4):1181-96. DOI: 10.1590/1413-81232015214.08742015
16. Guyatt G, Oxman AD, Akl EA, Kunz R, Vist G, Brozek J, et al. GRADE guidelines: 1. Introduction-GRADE evidence profiles and summary of findings tables. *J Clin Epidemiol.* 2011;64(4):383-94. DOI: 10.1016/j.jclinepi.2010.04.026
17. Schünemann H BJ, Guyatt G, Oxman A. GRADE handbook for grading quality of evidence and strength of recommendation. 2010. Disponível em: <https://gdt.gradepro.org/app/handbook/handbook.html>
18. Adams J, White M. Characterisation of UK diets according to degree of food processing and associations with socio-demographics and obesity: cross-

- sectional analysis of UK National Diet and Nutrition Survey (2008-12). *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2015;12:160. DOI: 10.1186/s12966-015-0317-y
19. Juul F, Martinez-Steele E, Parekh N, Monteiro CA, Chang VW. Ultra-processed food consumption and excess weight among US adults. *Br J Nutr.* 2018;1-11. DOI: 10.1017/S0007114518001046
 20. Lavigne-Robichaud M, Moubarac JC, Lantagne-Lopez S, Johnson-Down L, Batal M, Laouan Sidi EA, et al. Diet quality indices in relation to metabolic syndrome in an Indigenous Cree (Eeyouch) population in northern Quebec, Canada. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):172-80. DOI: 10.1017/s136898001700115x
 21. Mendonça RD, Lopes AC, Pimenta AM, Gea A, Martinez-Gonzalez MA, Bes-Rastrollo M. Ultra-Processed Food Consumption and the Incidence of Hypertension in a Mediterranean Cohort: The Seguimiento Universidad de Navarra Project. *Am J Hypertens.* 2017;30(4):358-66. DOI: 10.1093/ajh/hpw137
 22. Mendonça RD, Pimenta AM, Gea A, de la Fuente-Arrillaga C, Martinez-Gonzalez MA, Lopes AC, et al. Ultraprocessed food consumption and risk of overweight and obesity: the University of Navarra Follow-Up (SUN) cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2016;104(5):1433-40. DOI: 10.3945/ajcn.116.135004
 23. Nardocci M, Leclerc BS, Louzada ML, Monteiro CA, Batal M, Moubarac JC. Consumption of ultra-processed foods and obesity in Canada. *Can J Public Health.* 2018; 110:4-14. DOI:10.17269/s41997-018-0130-x
 24. da Silveira JAC, Meneses SS, Quintana PT, Santos VD. Association between overweight and consumption of ultra-processed food and sugar-sweetened beverages among vegetarians. *Rev Nutri.* 2017;30(4):431-41. DOI: 10.1590/1678-98652017000400003

25. Louzada ML, Baraldi LG, Steele EM, Martins AP, Canella DS, Moubarac JC, et al. Consumption of ultra-processed foods and obesity in Brazilian adolescents and adults. *Prev Med*. 2015;81:9-15. DOI: 10.1590/S0034-8910.2015049006211
26. Nasreddine L, Tamim H, Itani L, Nasrallah MP, Isma'eel H, Nakhoul NF, et al. A minimally processed dietary pattern is associated with lower odds of metabolic syndrome among Lebanese adults. *Public Health Nutr*. 2018;21(1):160-71. DOI: 10.1017/s1368980017002130
27. Silva FM, Giatti L, de Figueiredo RC, Molina M, de Oliveira Cardoso L, Duncan BB, et al. Consumption of ultra-processed food and obesity: cross sectional results from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil) cohort (2008-2010). *Public Health Nutr*. 2018;21(12):2271-9. DOI: 10.1017/s1368980018000861
28. Zhou Y, Du S, Su C, Zhang B, Wang H, Popkin BM. The food retail revolution in China and its association with diet and health. *Food Policy*. 2015;55:92-100. DOI: 10.1016/j.foodpol.2015.07.001
29. 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(16):1640-5. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644

30. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Guidelines on the collection of information on food processing through food consumption surveys. Rome: FAO; 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i4690e.pdf>
31. Pan American Health Organization. Ultra-Processed Food and Drink Products in Latin America: Trends, Impact on Obesity, Policy Implications. Washington DC: PAHO; 2015. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/7699>
32. Louzada MLdC, Canella DS, Jaime PC, Monteiro CA. Alimentação e saúde: a fundamentação científica do guia alimentar para a população brasileira. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2019. p. 132. DOI: 10.11606/9788588848344
33. Louzada MLdC, Martins APB, Canella DS, Baraldi LG, Levy RB, Claro RM, et al. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. *Rev Saúde Pública*. 2015;49(38). DOI: 10.1590/S0034-8910.2015049006132
34. Bielemann RM, Motta JV, Minten GC, Horta BL, Gigante DP. Consumption of ultra-processed foods and their impact on the diet of young adults. *Rev Saude Publica*. 2015;49:28. DOI: 10.1590/S0034-8910.2015049005572
35. Louzada ML, Martins AP, Canella DS, Baraldi LG, Levy RB, Claro RM, et al. Impact of ultra-processed foods on micronutrient content in the Brazilian diet. *Rev Saude Publica*. 2015;49:45. DOI: 10.1590/S0034-8910.2015049006211
36. Martinez Steele E, Raubenheimer D, Simpson SJ, Baraldi LG, Monteiro CA. Ultra-processed foods, protein leverage and energy intake in the USA. *Public Health Nutr*. 2018;21(1):114-24. DOI: 10.1017/S1368980017001574
37. Rauber F, da Costa Louzada ML, Steele EM, Millett C, Monteiro CA, Levy RB. Ultra-Processed Food Consumption and Chronic Non-Communicable Diseases-

- Related Dietary Nutrient Profile in the UK (2008-2014). *Nutrients*. 2018;10(5). DOI: 10.3390/nu10050587
38. Fardet A. Minimally processed foods are more satiating and less hyperglycemic than ultra-processed foods: a preliminary study with 98 ready-to-eat foods. *Food Funct*. 2016;7(5):2338-46. DOI: 10.1039/c6fo00107f
39. Zinocker MK, Lindseth IA. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. *Nutrients*. 2018;10(3). DOI: 10.3390/nu10030365
40. KD Hall AA, S Bernstein, R Brychta, H Cai, T Cassimatis, KY Chen, et al. Ultra-processed diets cause excess calorie intake and weight gain: A one-month inpatient randomized controlled trial of ad libitum food intake. Pre-print. 2019. DOI: 10.31232/osf.io/w3zh2
41. Djupegot IL, Nenseth CB, Bere E, Bjornara HBT, Helland SH, Overby NC, et al. The association between time scarcity, sociodemographic correlates and consumption of ultra-processed foods among parents in Norway: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2017;17(1):447. DOI: 10.1186/s12889-017-4408-3
42. Julia C, Martinez L, Alles B, Touvier M, Hercberg S, Mejean C, et al. Contribution of ultra-processed foods in the diet of adults from the French NutriNet-Sante study. *Public Health Nutr*. 2018;21(1):27-37. DOI: 10.1017/s1368980017001367
43. Poti JM, Braga B, Qin B. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What Really Matters for Health-Processing or Nutrient Content? *Curr Obes Rep*. 2017;6(4):420-31. DOI: 10.1007/s13679-017-0285-4
44. Costa CS, Del-Ponte B, Assuncao MCF, Santos IS. Consumption of ultra-processed foods and body fat during childhood and adolescence: a systematic

- review. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):148-59. DOI: 10.1017/S1368980017001331
45. Willett WC. Nutritional Epidemiology. In: Rothman, KJ, Greenland S, Lash, TL. Modern Epidemiology. 3. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 2008. p. 1188- 205.
46. Richiardi L, Bellocco R, Zugna D. Mediation analysis in epidemiology: methods, interpretation and bias. *Int J Epidemiol.* 2013;42(5):1511-9. DOI: 10.1093/ije/dyt127
47. Moreira PV, Baraldi LG, Moubarac JC, Monteiro CA, Newton A, Capewell S, et al. Comparing different policy scenarios to reduce the consumption of ultra-processed foods in UK: impact on cardiovascular disease mortality using a modelling approach. *PLoS One.* 2015;10(2):e0118353. DOI:10.1371/journal.pone.0118353
48. Moreira PV, Hyseni L, Moubarac JC, Martins APB, Baraldi LG, Capewell S, et al. Effects of reducing processed culinary ingredients and ultra-processed foods in the Brazilian diet: a cardiovascular modelling study. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):181-8. DOI: 10.1017/S1368980017002063
49. Monteiro CA, Cannon G. The role of the transnational ultra-processed food industry in the pandemic of obesity and its associated diseases: problems and solutions. *World Nutr.* 2019;10(1):89-99. DOI: 10.26596/wn.201910189-99

Tabela 1: Estratégia de busca nas bases de dados eletrônicas

Número de identificação	Palavras-chave
#1	<i>convenience foods OR food processing OR highly-processed OR industrialized foods OR minimally-processed OR prepared foods OR processed foods OR ultra-processed OR ultraprocessed OR ultra processed OR unprocessed</i>
#2	<i>metabolic syndrome OR hypertension OR blood pressure OR diabetes mellitus OR glucose OR glycaemia OR insulin OR cholesterol OR triglycerides OR blood lipids OR overweight OR obesity</i>
#3	<i>adult OR adults OR adulthood OR aged OR elderly OR old</i>
#1 AND #2 AND #3	

Antes de cada conjunto de palavras-chave no LILACS foi incluído (tw:) e na *Web of Science*, (TS=). Restrição para idiomas (inglês, português e espanhol) em cada base de dados.

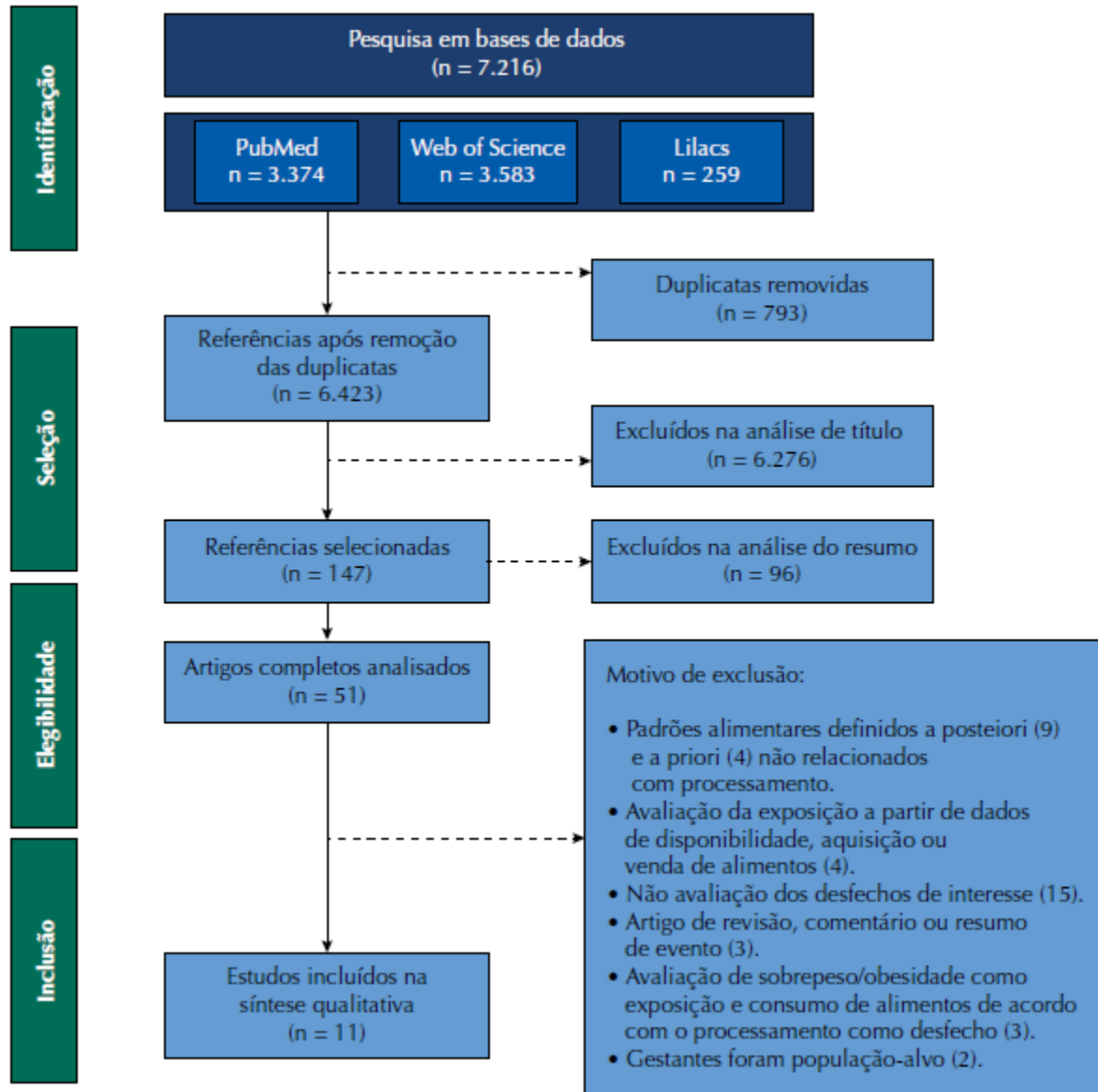


Figura 1: Fluxograma do processo de seleção dos artigos incluídos na revisão sistemática.

Tabela 2. Características e qualidade metodológica dos estudos incluídos na revisão sistemática.

Autor Ano de publicação	País	Delineamento	Tamanho da amostra Faixa etária Ano de realização da pesquisa	Pontuação STROBE (%)	Qualidade do estudo (STROBE)
Excesso de peso ou obesidade					
Adams <i>et al.</i> ¹⁸ 2015	Reino Unido	Transversal	n 2.174 ^a ≥ 18 anos 2008 – 2012	18,0 (81,8)	A
Louzada <i>et al.</i> ²⁵ 2015	Brasil	Transversal	n 30.243 ≥ 10 anos ^b (20 a 39, 40 a 59 e ≥ 60) 2008 – 2009	16,0 (72,7)	B
Zhou <i>et al.</i> ²⁸ 2015	China	Transversal ^c	n 14.976 ≥ 02 anos ^b (19 a 59 e ≥ 60) 2011	15,0 (68,2)	B
Mendonça <i>et al.</i> ²² 2016 ^d	Espanha	Coorte	n 8.451 Média de idade 37,7 anos Mediana de 8,9 anos de acompanhamento	17,0 (77,3)	B
Da Silveira <i>et al.</i> ²⁴ 2017 ^d	Brasil	Transversal - amostra de conveniência	n 503 vegetarianos ≥ 16 anos 2015	13,0 (59,1)	B
Juul <i>et al.</i> ¹⁹ 2018	Estados Unidos	Transversal	n 15.977 20 a 64 anos 2005-2006 e 2013-2014	19,0 (86,4)	A
Nardocci <i>et al.</i> ²³ 2018 ^e	Canadá	Transversal	n 19.363 ≥ 18 anos 2004-2005	18,0 (81,8)	A
Silva <i>et al.</i> ²⁷ 2018	Brasil	Transversal ^c	n 8.977 35 a 64 anos 2008-2010	21,0 (95,5)	A
Hipertensão Arterial					
Mendonça <i>et al.</i> ²¹ 2017 ^d	Espanha	Coorte	n 14.790 Média de idade 32,9 a 40,0 anos Média de 9,1 (DP=3,9) anos de acompanhamento	20,0 (90,9)	A
Síndrome Metabólica e componentes					
Nasreddine <i>et al.</i> ²⁶ 2018	Líbano	Transversal	n 302 Idade ≥ 18 anos 2014	20,0 (90,9)	A
Lavigne-Robichaud <i>et al.</i> ²⁰ 2018	Canadá	Transversal	n 811 indígenas ≥ 18 anos 2005-2009	16,0 (72,7)	B

^a183 missings para IMC; ^bresultados estratificados por idade; ^canálise transversal em um estudo de coorte; ^dautorrelato de peso e altura; e ^eautorrelato de peso e altura para aproximadamente 37% da amostra.

Tabela 3: Síntese dos estudos que avaliaram a associação entre sistemas de classificação de alimentos baseados no processamento e fatores de risco cardiometabólicos (n =11).

Estudo	Exposição	Variáveis de ajuste	Principais resultados
Excesso de peso ou obesidade			
Adams <i>et al.</i> ¹⁸ 2015	Diário Alimentar (3 a 4 dias) Classificação NOVA: AMP, ICP, AUP e AMP + ICP (% na IET)	sexo, classe social ocupacional, idade e porcentagem de energia derivada de bebidas alcoólicas.	IET: 28 % AMP, 13 % ICP e 53 % AUP. Maior consumo de ICP: IMC (kg/m ²) (β = -0,09; IC95% -0,016; -0,03) IMC \geq 25 kg/m ² (RO = 0,97; IC95% 0,96; 0,99) IMC \geq 30 kg/m ² (RO = 0,98; IC95% 0,97; 0,99) Maior consumo de ICP + AMP: IMC \geq 25 kg/m ² (RO = 0,99; IC95% 0,98; 0,99) Não houve associação significativa entre consumo de AMP e AUP com desfechos avaliados.
Louzada <i>et al.</i> ²⁵ 2015	Registro Alimentar (2 dias não consecutivos) Classificação NOVA: AMP, AP e AUP (% na IET)	sexo, idade, cor da pele, região geográfica, urbanidade, escolaridade, renda familiar per capita, tabagismo, atividade física, consumo de frutas, vegetais e feijões e interação sexo e renda.	IET: 68,6% AMP e 29,6% AUP (toda amostra - idade \geq 10 anos). 20 a 39 anos: não houve associação significativa entre consumo de AUP e desfechos avaliados. 1º quintil de consumo de AUP (referência) IMC (kg/m ²) 40 a 59 anos: 2º (β = 0,58; IC95% 0,09; 1,07); 3º (β = 0,51; IC95% 0,02; 1,00); 4º (β = 0,70; IC95% 0,10; 1,31) e 5º (β = 1,12; IC95% 0,25; 2,00) \geq 60 anos: 2º e 3º quintil sem diferença entre grupos; 4º (β = 1,49; IC95% 0,24; 2,74) e 5º (β = 1,66; IC95% 0,12; 3,2) IMC \geq 30 kg/m ² \geq 60 anos: 2º (RO = 1,65; IC95% 1,14; 2,38); 3º (RO = 1,74; IC95% 1,14; 2,67); 4º (RO = 2,07; IC95% 1,24; 3,45) e 5º (RO = 2,62; IC95% 1,22; 5,64). Sem associação com excesso de peso e obesidade para 20 a 39 e 40 a 59 anos.
Zhou <i>et al.</i> ²⁸ 2015	Recordatório de 24h (3 dias consecutivos) AP = alimentos embalados, congelados, enlatados, ensacados e/ou empacotados (kcal).	Modelo 1: ingestão energética de outros alimentos, sexo, escolaridade, renda domiciliar per capita, atividade física e horas sedentárias. Modelo 2 (variáveis instrumentais): distância da mercearia e mercado mais próximo e urbanidade + modelo 1.	IET: AP 28% e 29% para os participantes com 19-59 e 60 anos ou mais, respectivamente. 19-59 anos: IMC (kg/m ²) (β = 0,34; EP = 0,10) e IMC \geq 25kg/m ² (RO = 1,17; EP = 0,06) \geq 60 anos: IMC (kg/m ²) (β = 0,46; EP = 0,17) e IMC \geq 25kg/m ² (RO = 1,13; EP = 0,10). Modelo 2, para adultos e idosos não houve associação significativa.
Mendonça <i>et al.</i> ²² 2016	QFA (últimos 12 meses) Classificação NOVA: AUP (porções/dia)	sexo, atividade física, horas assistindo televisão, sono de sesta, tabagismo, “beliscar” entre as refeições, seguindo uma dieta especial no <i>baseline</i> , IMC no <i>baseline</i> e consumo de frutas e vegetais.	1º quartil de consumo de AUP (referência) IMC \geq 25 kg/m ² 2º (HR = 1,15; IC95% 1,01; 1,32) 3º (HR = 1,24; IC95% 1,09; 1,43) 4º (HR = 1,26; IC95% 1,10; 1,45)

Tabela 3: Síntese dos estudos que avaliaram a associação entre sistemas de classificação de alimentos baseados no processamento e fatores de risco cardiometabólicos (n =11).

Da Silveira <i>et al.</i> ²⁴ 2017	QFA (consumo semanal) Classificação NOVA (AUP) e bebidas açucaradas.	Tempo de vegetarianismo	Consumo de AUP no mínimo 3x/dia: 10,1%. Consumo de AUP ≥3x/dia: IMC ≥ 25kg/m ² (16-59 anos) ou ≥ 27kg/m ² (≥ 60 anos) (RO = 2,33; IC95% 1,36; 4,03)
Juul <i>et al.</i> ¹⁹ 2018	Recordatório de 24h (dados para um dia) Classificação NOVA AUP (% na IET)	Modelo 1: idade, sexo, escolaridade, raça/etnia, razão renda família: pobreza, estado civil, tabagismo e atividade física. Modelo 2: IET (mediador ou fator de confusão).	IET: AUP 56,1% 5º quintil de consumo de AUP vs. 1º quintil (referência): IMC (kg/m ²) (β = 1,61; IC95% 1,11; 2,10) IMC ≥ 25kg/m ² (RO = 1,48; IC95% 1,25, 1,76) IMC ≥ 30kg/m ² (RO = 1,53; IC95% 1,29; 1,81) CC (cm) (β = 4,07; IC95% 2,94; 5,19) CC ≥ 88/102cm para H e M, respectivamente (RO = 1,62; IC95% 1,39; 1,89) Valor-p de tendência linear < 0,0001 para todas as associações. Ajuste para ingestão energética não modificou de forma significativa as associações (dados não apresentados no artigo). Interação entre sexo e contribuição relativa de AUP para IMC, CC e excesso de peso.
Nardocci <i>et al.</i> ²³ 2018	Recordatório de 24h (dia anterior à entrevista) Classificação NOVA: AUP (% na IET)	Modelo 1: sexo, idade, escolaridade e renda por domicílio. Modelo 2: modelo 1 + atividade física e tabagismo. Modelo 3: modelo 2 + status de imigrante. Modelo 4: modelo 3 + área de residência. Modelo 5: modelo 4 + peso/altura mensurados vs. autorrelatados.	IET: AUP 45% Aumento de 10 p.p no consumo de AUP: IMC ≥ 25 a 29,9 kg/m ² (RO = 1,03; IC95% 1,02; 1,09). IMC ≥ 30 kg/m ² (RO = 1,05; IC95% 1,02; 1,08) 1º quartil de consumo de AUP (referência): IMC ≥ 30 kg/m ² 4º (RO = 1,32; IC95% 1,05; 1,57)
Silva <i>et al.</i> ²⁷ 2018	QFA (últimos 12 meses) Classificação NOVA: AUP (% na IET)	Modelo 1: sexo, idade, cor da pele, renda familiar per capita. Modelo 2: modelo 1 + atividade física, tabagismo, HAS e DM. Modelo 3: modelo 2 + ingestão energética do grupo de AMP e ICP da NOVA. Modelo 4: modelo 3 + IET.	IET: 22,7% AUP. 1º quartil de consumo de AUP (referência): 4º (β = 0,64; IC95% 0,33; 0,95) - IMC (kg/m ²) 4º (β = 0,95; IC95% 0,17; 1,74) - CC (cm) 1º quartil de consumo de AUP e IMC < 25 kg/m ² (referência): 4º (RO = 1,31; IC95% 1,13; 1,51) - IMC 25 a 29,9 kg/m ² 4º (RO = 1,41; IC95% 1,18; 1,69) - IMC ≥ 30 kg/m ² 1º quartil de consumo de AUP e CC <94cm (H) e <80cm (M) (referência): 4º (RO = 1,41; IC95% 1,20; 1,66) - CC ≥ 88/102 cm para H e M, respectivamente. Não houve associação para categoria com CC ≥94 e <102cm (H) e ≥80 e <88cm (M).

Tabela 3: Síntese dos estudos que avaliaram a associação entre sistemas de classificação de alimentos baseados no processamento e fatores de risco cardiometabólicos (n =11).

Hipertensão Arterial			
Mendonça <i>et al.</i> ²¹ 2017	QFA (últimos 12 meses) Classificação NOVA: AUP (porções/dia)	Modelo 1: sexo, atividade física, horas assistindo televisão, IMC no <i>baseline</i> , tabagismo, uso de analgésicos, seguindo uma dieta especial no <i>baseline</i> , história familiar de hipertensão, consumo de álcool, hipercolesterolemia. Modelo 2: modelo 1 + IET, ingestão de azeite de oliva e de frutas e vegetais.	3º tercil de consumo de AUP vs. 1º (referência): HAS (HR = 1,21; IC95% 1,06–1,37) Ao excluir do modelo IET (possível mediador) (HR = 1,21; IC95% 1,07; 1,37).
Síndrome metabólica e componentes			
Nasreddine <i>et al.</i> ²⁶ 2018	QFA (últimos 12 meses) Baseado na classificação NOVA: dois padrões alimentares identificados (ultraprocessados e minimamente processado/processado)	Modelo 1: sexo, idade, situação conjugal, área de residência, escolaridade, renda mensal, tabagismo e atividade física e IET. Modelo 2: modelo 1 + IMC.	IET: AMP 27,10%; ICP 12,25%; AP 23,83% e AUP 36,53%. Adesão média/elevada ao padrão minimamente processado/processado foi proteção para: hiperglicemia (RO = 0,25; IC95% 0,07; 0,98) baixo colesterol HDL-C (RO = 0,17; IC95% 0,05; 0,60) síndrome metabólica ³⁰ (RO = 0,18; IC95% 0,04; 0,77) Ao acrescentar IMC no modelo, apenas a associação com hiperglicemia foi atenuada e não foi estatisticamente significativa. Padrão ultraprocessados não foi associado com síndrome metabólica e nenhum dos seus componentes
Lavigne-Robichaud <i>et al.</i> ²⁰ 2018	Recordatório de 24h Classificação NOVA (AUP), aHEI-2010 e FQS. NOVA quanto maior o consumo, menor a qualidade da dieta. Para aHEI-2010 e FQ quanto maior o consumo, melhor a qualidade da dieta.	Idade, sexo, área de residência, ingestão energética diária total, tabagismo e consumo de bebidas alcóolicas.	IET: AUP média de 51,9 (DP 22,9) %. 5º quintil de consumo de AUP vs. 1º quintil (referência): baixo HDL-C (RO = 2,05; IC95% 1,25; 3,38) síndrome metabólica ³⁰ (RO = 1,90; IC95% 1,14; 3,17) Consumo de AUP não foi associado com demais componentes da síndrome metabólica.

aHEI-2010: *The alternative-Healthy Eating Index 2010*; AMP: alimentos não processados (*in natura*) ou minimamente processados; AP: alimentos processados; AUP: alimentos ultraprocessados CC: circunferência da cintura; DM: diabetes; FQS: *Food Quality Score*; H: homens; HAS: hipertensão arterial sistêmica; ICP: ingredientes culinários processados; M: mulheres; QFA: questionário de frequência alimentar; IMC: índice de massa corporal; IET: ingestão energética total; IMC: índice de massa corporal; p.p: pontos percentuais; β: coeficiente da regressão linear; RO: razão de odds da regressão logística; e HR: hazard ratio da regressão de Cox.

Tabela 4. Qualidade de evidência da associação entre consumo de alimentos ultraprocessados e fatores de risco cardiometabólicos em adultos e idosos.

Desfecho	Associação positiva	Sem associação	Qualidade da evidência (GRADE)
Excesso de peso ou obesidade			Associação positiva ⊕⊕⊕○
Média de IMC (kg/m ²)	Louzada <i>et al.</i> ²⁵ (2015 ^a) Silva <i>et al.</i> ²⁷ (2018) Juul <i>et al.</i> ¹⁹ (2018)	Adams <i>et al.</i> ¹⁸ (2015) Louzada <i>et al.</i> ²⁵ (2015 ^b)	
IMC 25 a 29,9 kg/m ² (sobrepeso)	Nardocci <i>et al.</i> ²³ (2018) Silva <i>et al.</i> ²⁷ (2018)	-	
IMC ≥ 25 kg/m ² (excesso de peso)	Mendonça <i>et al.</i> ²² (2016) Da Silveira <i>et al.</i> ²⁴ (2017 ^d) Juul <i>et al.</i> ¹⁹ (2018)	Adams <i>et al.</i> ¹⁸ (2015) Louzada <i>et al.</i> ²⁵ (2015)	
IMC ≥ 30 kg/m ² (obesidade)	Louzada <i>et al.</i> ²⁵ (2015 ^c) Juul <i>et al.</i> ¹⁹ (2018) Nardocci <i>et al.</i> ²³ (2018) Silva <i>et al.</i> ²⁷ (2018)	Adams <i>et al.</i> ¹⁸ (2015)	
Média de CC e ≥ 88cm (M) e 102cm (H)	Juul <i>et al.</i> ¹⁹ (2018) Silva <i>et al.</i> ²⁷ (2018)	-	
Hipertensão Arterial			Associação positiva ⊕⊕○○
	Mendonça <i>et al.</i> ²¹ (2017)	-	
Síndrome Metabólica			Associação positiva ⊕⊕○○
	Lavigne-Robichaud <i>et al.</i> ²⁰ (2018)	Nasreddine <i>et al.</i> ²⁶ (2018)	

GRADE: *Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation*: ⊕⊕⊕○ qualidade de evidência moderada (B) e ⊕⊕○○ qualidade de evidência baixa (C). CC: circunferência da cintura; H: homens; IMC: índice de massa corporal; e M: mulheres. ^afaixa etária de 40 a 49 e ≥ 60 anos; ^bfaixa etária de 20 a 29 anos; ^cfaixa etária de ≥ 60 anos; ^dIMC ≥ 27kg/m² (≥ 60 anos). Zhou *et al.*²⁹ (2015) não foi incluído nesta avaliação, pois exposição foi alimentos processados. Nenhum estudo apresentou associação negativa com os desfechos de interesse.

ARTIGO ORIGINAL 1

Aceito para publicação na *Annals of Human Biology*

Epidemiology of interleukin-6: the 30-year follow-up of the 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study

^aFrancine Silva dos Santos (ORCID: 0000-0002-6077-269X)

^aIsabel Oliveira de Oliveira (ORCID: 0000-0002-0068-0806)

^bGicele Costa Mintem (ORCID: 0000-0002-9321-2330)

^aBernardo Lessa Horta (ORCID: 0000-0001-9843-412X)

^{a,b}Denise Petrucci Gigante (ORCID: 0000-0001-7309-5838)

^a Post-graduate Program in Epidemiology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.

^bPost-graduate Program in *Nutrition and Food*, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.

Corresponding author

Santos FS. Rua Marechal Deodoro, 1160 - 3º Piso, Centro, Pelotas, RS, Brazil. Zipcode: 96020-220. Phone: +55 (53) 32841300. Email: nutrifrancinesantos@gmail.com

Abstract

Background: Cardiovascular diseases are the main cause of death globally. Interleukin-6 (IL-6) is a biomarker of cardiovascular risk.

Aim: To investigate factors associated with IL-6 concentration in serum, from early life up to 30 years of age.

Subjects and methods: In the 2012-2013 follow-up, IL-6 was measured in 2,809 participants of the 1982 Pelotas Birth Cohort (1,369 males). Multivariable linear regressions, stratified by sex, were performed to evaluate the associations of African ancestry, family income and maternal education at birth, monthly income and education at 30 years, smoking status, harmful alcohol intake, physical activity, and body composition with IL-6, considering a conceptual hierarchical framework.

Results: Males with low educational levels and current smokers had the highest mean IL-6. Among females, African ancestry, and low monthly income were associated with the highest mean values for the outcome. Physical activity had an inverse association with IL-6 concentration among females. A direct relationship was observed between the measures of adiposity on IL-6, in both sexes.

Conclusion: Body composition was the main predictor for the outcome evaluated in males and females. Thus, the avoidance of overweight remains an important strategy for the prevention and control of cardiovascular risk and biomarkers associated with these diseases.

Keywords: interleukin-6, biomarkers, risk factors, epidemiology, adults

Introduction

Interleukin-6 (IL-6) is a cytokine with activity pro- and anti-inflammatory (Qu et al. 2014; Schaper & Rose-John 2015). Its pleiotropic function has been described in the immune system, hematopoiesis, regenerative proprieties, and metabolic regulation (Qu et al. 2014; Schaper & Rose-John 2015). Chronic exposure to IL-6 may promote cardiovascular diseases through metabolic, endothelial, and coagulant mechanisms (Yudkin et al. 2000). In this sense, this cytokine has become an important biomarker of cardiovascular risk (Yudkin et al. 2000; Jansen et al. 2014).

Cardiovascular diseases (CVD) are the main cause of death globally (WHO 2018). In 2017, an estimated 18 million people died of CVD, worldwide. This corresponds to 330 million years of life lost (Roth et al. 2018) and 36.6 million years lived with disability (Kyu et al. 2018). Total deaths from CVD increased by 21.1% in 2017 compared with 2007, despite a decrease in death rates during the period evaluated (Roth et al. 2018). Brazil follows this trend, and CVD is also the main cause of years of life lost, especially among females (Marinho et al. 2018). In 2015, these diseases corresponded to 424,058 (31.2%) of all deaths in the country, and a decrease in death rates by cardiovascular events was observed (Brant et al. 2017).

According to the World Health Organization (WHO), CVD is determinate for social, behavioural, and metabolic factors (WHO 2018). In this line, efforts also have to be conducted to decrease the prevalence of cardiovascular risk factors, such as prevention actions (WHO 2013; WHO 2018). Higher concentrations of IL-6 were observed in individuals with the presence of metabolic outcomes, including those associated with cardiovascular risk, for instance, obesity, as previously described in another birth cohort study, performed in the same city in Brazil that the 1982 Pelotas Birth Cohort (Menezes et

al. 2018). Also, studies found links between socioeconomic (Muscatell et al. 2018) and behavioural (Al Rifai et al. 2017; Vella et al. 2017) characteristics and IL-6 concentrations. Although more than 75% of deaths from CVD occur in low and middle-income countries (WHO 2018), the body of evidence about factors associated with IL-6 concentrations is mainly from high-income countries and with specific populations.

Individuals with increased IL-6 serum concentrations presented the highest risk for cardiovascular mortality (Lee et al. 2012; Schnabel et al. 2013). IL-6 signalling occurs via membrane-bound or soluble receptors (Schaper & Rose-John 2015). Polymorphisms (rs2228145 e rs7529229) in the interleukin-6 receptor (*IL6R*) reduced the signalling in this cytokine, which leads to the attenuation of downstream consequences of IL-6 (Sarwar et al. 2012; Swerdlow et al. 2012). Using the Mendelian randomisation approach, it was reported that these polymorphisms in the *IL6R* gene reduced the risk of coronary heart disease, evidencing a causal relationship between this cytokine and cardiovascular events (Sarwar et al. 2012; Swerdlow et al. 2012).

Due to the importance of identifying factors associated with IL-6 concentrations for predicting cardiovascular risk and elaboration of prevention actions, as well as to contribute to filling the gaps in the literature about low and middle-income countries, this study aimed to investigate factors associated with serum IL-6 concentration, from early life up to 30 years of age, in the 1982 Birth Cohort from Pelotas (Brazil). Four main factor groups have been tested: I) ancestry and socioeconomic characteristics at early life; II) socioeconomic characteristics at adulthood; III) behavioural variables; and IV) different measures of body composition at 30 years of age. We hypothesized that adverse socioeconomic and behavioural characteristics that offer cardiovascular risk, and high adiposity measures, are

associated with the highest IL-6 concentrations in both sexes in a middle-income country context.

Subjects and methods

The 1982 Pelotas Birth Cohort study was conducted in Pelotas, a city in the extreme south of Brazil, with 214,000 inhabitants that year. From January to December 1982, all three maternity hospitals in the city were visited daily and births were recorded. The original cohort included 5,914 live births whose families lived in the urban area of the city. This number represented 99.2% of all births. Participants have been followed up on several occasions. Further details of the study methodology were published previously (Victora & Barros 2006; Barros et al. 2008; Horta et al. 2015). In 2012 – 2013 (mean age 30.4 years; SD 0.35), 3,701 participants were evaluated, which, in addition to the 325 known deaths, represented a follow-up rate of 68.1%.

Interleukin-6 concentration

At the 30 years follow-up, non-fasting blood samples were collected from 3,453 participants in the Epidemiological Research Center of the Federal University of Pelotas in the daytime, from 8 am to 8:30 pm. The exclusion criterion for blood samples collecting was pregnancy. All samples were processed in the laboratory and stored in freezers at ultra-low temperature (-80°C). Between July and September 2017, serum IL-6 was measured in duplicate for 2,988 participants whose blood samples had been collected in the last follow-up by the Quantikine® HS Human IL-6 immunoassay kit (R&D Systems®, Inc.; Minneapolis, MN55413, USA) and SpectraMax 190 microplate spectrophotometer (Molecular Devices Corp, California, USA). Intra-assay and inter-assay coefficients of variation were 1.9% and 3.4%, respectively.

Out of 2,988 participants with IL-6 data at the 30 years follow-up, were excluded 137 individuals who reported continuous use (\geq one month) of hypertension, diabetes, dyslipidaemias, and/or depression medicines. Additionally, 42 participants were not considered, because they presented IL-6 serum concentration above the 10 pg/mL (Ridker et al. 2000; Amaral et al. 2016), which might be indicative of acute inflammation. Therefore, the final sample comprised of 2,809 cohort members (1,369 males).

Independent variables

The baseline measurements included in the analyses were sex (males/female), family income at birth (in tertiles), and maternal education in complete years (0 – 4; 5 – 8; 9 – 11; \geq 12). Genomic ancestry analysis was based on peripheral blood DNA samples from the 3,736 cohort members who had been evaluated at 22–23 years of age, using genotype data on 370,539 genome-wide variants to quantify ancestral proportions in each individual. The analyses were carried out as part of the Epigen Initiative as described before (Lima-Costa et al. 2015). African ancestry proportion was categorised in the study as follows: 0.00 - 4.59; 4.60 - 10.99; and 11.00 - 87.91 (Borges et al. 2017).

The participants' characteristics at the 30 years follow-up included: monthly income (in tertiles), education in complete years (0 – 4; 5 – 8; 9 – 11; \geq 12), smoking status (never smoked; former smoker; current smoker), harmful alcohol intake (Alcohol Use Disorders Identification Test – AUDIT \geq 8 points) (WHO 2001) and total physical activity (in tertiles), objectively estimated using accelerometers (GENEActiv ActivInsight, Kimbolton, UK), considering a minimum of ten minutes of moderate/vigorous physical activity in the mean of minutes/day. The cohort members used the accelerometers in the non-dominant wrist all day and night, including when having a shower and performing other water activities. The period

of use varied from four to seven days, including one weekend day. Methodological details of the accelerometry protocol have been described elsewhere (Da Silva et al. 2014).

Body composition variables were collected in the 2012-2013 follow-up. Body mass index (BMI) was obtained from weight and height (kg/m^2) and the individuals were classified as underweight/healthy weight ($\text{BMI} < 25.0 \text{ kg/m}^2$), overweight ($25.0 - 29.9 \text{ kg/m}^2$) and obese ($\geq 30.0 \text{ kg/m}^2$) (WHO 2000). Waist circumference (WC) was classified according to the WHO cut-off points as normal ($< 94 \text{ cm}$ for men; $< 80 \text{ cm}$ for women), increased risk for metabolic complications (≥ 94 and $< 102 \text{ cm}$ for men; ≥ 80 and $< 88 \text{ cm}$ for women) and significantly increased risk for metabolic complications ($\geq 102 \text{ cm}$ for men; $\geq 88 \text{ cm}$ for women) (WHO 2000), measured with a tape measure in the narrowest point of the abdomen. Fat mass was assessed using Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA, model Lunar Prodigy Advance - GE®, Germany) (Bielemann et al. 2016). We used the fat mass index (kg/m^2 , categorised in tertiles) estimated by dividing the fat mass (in kg) by square height in meters. The visceral fat thickness and subcutaneous abdominal fat thickness (centimetres, categorised in tertiles) were measured through abdominal ultrasound imaging, using a 3.5-MHz convex probe interfaced with a Toshiba Xario (Toshiba Medical Systems Corp) ultrasound machine. Details can be found in a previous publication (De França et al. 2017).

Statistical analyses

Due to the asymmetric distribution of the IL-6 (pg/mL), we carried out the analyses on the logarithmic scale. Descriptive analyses of the independent variables and outcomes were performed. Variables were included in linear regression models following the conceptual framework adopted (Victora et al. 1997), defined a priori (Figure 1). The distal variables, ancestry, and socioeconomic characteristics at perinatal were incorporated in the first level (African ancestry, family income, and maternal education), followed by

socioeconomic variables at 30 years (monthly income and education) in the second level. The third level hierarchical comprised behavioural variables at 30 years old (smoking status, harmful alcohol intake, and total physical activity). The fourth most proximal level was encompassed by estimates of body composition (BMI, WC, fat mass index, visceral fat thickness, and subcutaneous abdominal fat thickness). Each variable of body composition was tested in separate models due to collinearity. Statistical comparisons between categories were performed with tests of heterogeneity or linear trend when there was an indication of a trend. Estimates were adjusted for other variables in the same and distal levels of determination; those that presented $p < 0.20$ at their hierarchical level remained in the model. The normality of residuals and homoscedasticity (homogeneity of variance) were tested graphically. The variance inflation factor was used to evaluate multicollinearity between the explanatory variables. The results were reported in pg/mL for IL-6, in means and confidence interval of 95% after exponential of the logarithm results. The analyses were sex-stratified after a formal interaction test. All statistical analyses were performed using Stata version 14 (StataCorp, College Station, TX, USA).

Ethical considerations

In the early phases, verbal informed consent was obtained from the caregivers, according to procedures at that time, in Brazil. Recent phases comply with the current requirements of ethical review and include written informed consent from the participants. The 30 years follow-up of the 1982 Pelotas Birth Cohort was approved by the Federal University of Pelotas Ethics Committee, affiliated to the Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (National Research Ethics Committee – CONEP) – protocol number: of.16/12.

Results

The 2,809 members of the 1982 Birth Cohort (males n 1,369) included in the current analysis corresponded to 75.9% of the individuals interviewed in the 2012-2013 follow-up. Compared with the original cohort, the present study sample was slightly more likely to be female and belong to the intermediate socioeconomic categories at birth. The mothers were at a slightly higher age and lower education level. Also, this sample was less likely to have had low birth weight (Supplemental Table 1). However, the magnitude of these differences was small; the maximum difference was approximately 3.0% for sex prevalence.

Sex significantly modified (p-interaction value < 0.05) the associations of African ancestry, monthly income, and education at 30 years old, smoking status, and all measures of body composition with the outcome. Thus, the analyses were sex-stratified. The distribution of IL-6 was positively skewed with a median of 1.38 pg/mL (IQR 0.97; 2.15) in the total sample, 1.36 pg/mL (IQR 0.98; 2.04) for males, and 1.42 pg/mL (IQR 0.97; 2.24) for females. After having been transformed into logarithms, the mean was 0.40 log pg/mL (SD 0.60), 0.38 log pg/mL (SD 0.59), and 0.42 log pg/mL (SD 0.61) for the total sample, males and females, respectively (data not presented).

Table 1 shows the sample description for males. Regarding the characteristics of early life, the most common category for African ancestry proportion was 0.00 – 4.59% (33.4%), and 44.4% of participants' mothers had 5-8 years of education. In adulthood, about two in five participants had twelve years or more of education (38.7%). Over 40.0% were current smokers or former smokers and belonged to the upper tertile of physical activity. Harmful alcohol intake was reported for 35.3% of males. The associations of IL-6 and independent variables among men are shown in Table 1. After adjusting IL-6 according to the conceptual framework, participants who had an elevated education showed the lowest

mean of IL-6 (1.38 pg/mL; 95% CI 1.30; 1.45) compared with other categories of education. Also, higher means of IL-6 were observed among current smokers (1.57 pg/mL; 95% CI 1.47; 1.69) than in individuals who had never smoked (1.40 pg/mL 95%; CI 1.34; 1.47).

Table 2 describes the characteristics of the sample for females; about one in three participants belonged to the category with the lowest proportion of African ancestry. The maternal education category of 5 to 8 years had the greatest proportion of female participants (42.7%). At 30 years of age, 46.5% had twelve or more years of education. Concerning behavioural characteristics, approximately 40.0% were current smokers or former smokers and belonged to the lowest tertile of physical activity. Only 10.7% had harmful alcohol intake. Analysing the associations between IL-6 and the independent variables among women, also shown in Table 2, those within the higher proportion of African ancestry presented higher means of IL-6 (1.64 pg/mL; 95% CI 1.55; 1.74) than those in minor (1.48 pg/mL; 95% CI 1.40; 1.57) and intermediate (1.44 pg/ml; 95% CI 1.36; 1.52) proportion of African ancestry. Another socioeconomic variable associated with IL-6 was monthly income in adulthood; females in the first tertile had higher means of IL-6 (1.55 pg/mL; 95% CI 1.48; 1.63), while the means for participants belonging to the second and the third tertiles were respectively 1.51 pg/mL (95% CI 1.43; 1.60) and 1.44 pg/mL (95% CI 1.33; 1.57). Physical activity was linearly associated with IL-6 among females, with a higher mean for the first tertile (1.63 pg/mL; 95% CI 1.54; 1.73) followed by the second (1.51 pg/mL; 95% CI 1.42; 1.60) and third (1.37 pg/mL; 95% CI 1.28; 1.47) tertiles.

The distribution of body composition variables by sex is presented in Supplemental Table 2. In the adjusted analyses, according to the conceptual framework, the mean of IL-6 increased linearly with the categories of anthropometric variables (BMI and WC) for males and females (Figure 2). The same pattern of dose-response, but in less magnitude, was

observed using other different adiposity measures like fat mass index, visceral fat thickness, and subcutaneous abdominal fat thickness (Figure 3).

Discussion

This is one of the first studies on the association between IL-6 and socioeconomic, behavioural, and body composition characteristics in a sample of Brazilian adults, including variables from early life up to adulthood, and considering sex differences in serum IL-6 concentration. Population-based studies evaluating risk factors and IL-6 in LMICs, specifically in healthy young adults, are scarce (McDade et al. 2011; Menezes et al. 2019).

In the 30-year follow-up of the 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort, the main predictor of the outcome was body composition, for both sexes. Concerning the associations of African ancestry, education, monthly income, smoking status, and physical activity with IL-6 concentration, the findings were not consistent between males and females. Sex is a biological variable that distinguishes the individuals according to chromosomal karyotype, reproductive organs, and sex hormones (Klein & Flanagan 2016; Buffarini et al. 2020). Gender defines disparities between males and females determined by society or culture (Klein & Flanagan 2016; Buffarini et al. 2020). The immunological response might be influenced by both, sex and gender (Klein & Flanagan 2016), thus the biological variable was used to stratify the analyses in the current study. However, gender also must be considered in the interpretation of the results.

A positive association between African ancestry and mean IL-6 serum concentration was only observed among females. Differences in the inheritance of IL-6 genotype in populations of African ancestry may result in higher expressions when compared to populations of European ancestry (Hoffmann et al. 2002). In the observational studies, the findings of ethnic differences in IL-6 serum concentration are heterogeneous (Gruenewald et

al. 2009; Stowe et al. 2010; Crouch et al. 2020). Although genomic ancestry and ethnicity are distinct, to help fill this knowledge gap, genomic ancestry was included in the conceptual model. The admixed composition of the Brazilian population makes ethnoracial classification complex. Also, it is important to mention that ethnoracial self-reporting in the 1982 Pelotas Birth Cohort was affected by both genomic ancestry and non-biological factors (Lima-Costa et al. 2015).

Socioeconomic factors may be mediators of the association observed between African ancestry and IL-6, like monthly income, a variable that also showed significant association with the outcome only among females in the present study. In Brazil, national studies observed that women with a high proportion of African ancestry are the most disadvantaged population, with a monthly income of less than half of males of European ancestry (IBGE 2019). According to a meta-analysis that included only studies with North American participants, lower socioeconomic status (SES) was associated with higher IL-6 ($Z = 0.15$; 95% CI, 0.12–0.18) (Muscatell et al. 2018). Longitudinal studies identified higher mean IL-6 among participants with unfavourable socioeconomic conditions (Loucks et al. 2010; Lin et al. 2017).

Regarding behavioural factors, males who self-reported as current smokers had higher mean IL-6 than those who had never smoked. The biological mechanisms by which smoking impacts inflammation, including an increase in IL-6 levels, are described in the literature (Goncalves et al. 2011). Results of the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) showed a positive association between smoking intensity (cigarettes per day) (Al Rifai et al. 2017) and current smoking (McEvoy et al. 2015) on IL-6 concentration. However, no significant difference was observed in mean IL-6 between participants never smokers vs. current smokers in the Framingham Heart Study Offspring (Levitzky et al. 2008). The same

study reported a positive relationship between pack-years of smoking and IL-6 concentration (Levitzky et al. 2008). Sex did not influence these results (Levitzky et al. 2008; McEvoy et al. 2015; Al Rifai et al. 2017), as opposed to what was observed in the 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort. We highlight the heterogeneity of the definition of smoking status in the cited references. A review about the intersection of sex, tobacco use, and inflammation reported that the definition of this relationship is complex because many studies do not report whether inflammatory markers differed by sex; the results are not consistent; and there is little knowledge regarding the mechanism by which this interaction occurs, although there is evidence that sex hormones might be involved (Ashare & Wetherill 2018).

The present research observed an inverse relationship between physical activity and the outcome among females. For males, there was no linear trend between means of IL-6 and physical activity level ($p = 0.08$). There are studies with results in the same line using cross-sectional (Sotos-Prieto et al. 2016; Vella et al. 2017) and longitudinal analysis (Hamer et al. 2012), and reports of null association (Golzarand et al. 2012). The limitations of these references include the fact that physical activity is self-reported, which may be less accurate than objective measures (Vella et al. 2017). In the current study, this variable was objectively measured through accelerometry. Also, most of the studies evaluate the association between physical activity and IL-6 independent of adiposity measures. In this sense, it is important to note that adiposity may be a mediator based on the hypothesis that physical activity modulates IL-6 by reducing adiposity (Ghanemi & St-Amand 2018). Finally, the non-stratification by sex in the references cited difficult to comprise and to compare the role of sex differences.

Although we observed statistically significant differences in mean IL-6 between groups based on some behavioural variables, the differences between groups were small in

magnitude. We found mean IL-6 differences above 1 pg/mL only for measures of body composition.

The more proximal level of the outcome included the measures of body composition, more specifically adiposity. The highest mean IL-6 was observed among individuals with the highest adiposity, consistent for all body composition measures, and both sexes. The chronic inflammation linked to obesity confers the proportional relationship between this disease and IL-6 (Eder et al. 2009). Plausible mechanisms include the IL-6 synthesis promoted by adipocytes and macrophages infiltrated in the adipose tissue (Eder et al. 2009). On the other hand, a meta-analysis showed that a polymorphism in the promoter region of the IL-6 gene (rs1800795) was associated with obesity (Hu et al. 2018). Data from the 1993 Pelotas (Brazil) Birth Cohort, when comparing changes in body composition between the 18 and 22-year-old follow-ups, showed associations in the same direction using BMI, WC, and fat mass percentage as adiposity measurements (Menezes et al. 2018). Furthermore, studies found a positive association between visceral and subcutaneous adipose tissue and this cytokine (Pou et al. 2007; Carroll et al. 2009; Cartier et al. 2009; Fenkci et al. 2006).

Although visceral fat mass had the steeper slope in females, we stand out that anthropometric measures (BMI and WC) presented linear relationships with mean IL-6 as well as estimates that were collected using DXA and abdominal ultrasound. This result is relevant for public health because it indicates that anthropometric measures characterised by simple collection, non-invasive, cheap, present greater comparability with data from the international literature (Brasil, 2011) than accurate techniques (Kuriyan 2018) and it may be adequate predictors of IL-6 serum and consequently cardiovascular risk.

Some limitations of this study have to be considered. Although it is plausible that socioeconomic, behavioural, and body composition characteristics precede IL-6 serum concentration, due to the cross-sectional design of analyses at adulthood, it is not possible to determine temporality and consequently causality for these associations. The variables monthly income, education, smoking status, and harmful alcohol intake were self-reported; thus, measurement error and misclassification may occur. Concerning the outcome, IL-6 was measured only at 30 years of age, caution is needed when interpreting if the IL-6 serum indeed reflected chronic inflammation. However, we excluded participants with IL-6 concentrations above 10 pg/mL, which might be indicative of acute inflammation (Ridker et al. 2000; Amaral et al. 2016), and those taking medications. Also, there is a diurnal variation of IL-6 circulation (Nilsson et al. 2016), and the analyses did not take into account the time of day of IL-6 measurement, although the blood collection was made in an interval of 12 hours. Finally, the results can be generalised for adults with similar characteristics, especially promoting evidence for low and middle-income countries.

Conclusion

Our results promote important insights for public health because they increase the evidence that avoiding obesity and overweight is essential to prevent cardiovascular diseases. The current study highlights a biological mechanism (via IL-6) which, when associated with social and behavioural factors and obesity, might increase cardiovascular risks. Also, most factors associated with IL-6 observed in this study are modifiable and may be the target of intervention actions, considering the sex differences presented in the study.

References

Al Rifai M, DeFillippis AP, McEvoy JW, Hall ME, Acien AN, Jones MR, Keith R, Magid HS, Rodriguez CJ, Barr GR, et al. 2017. The relationship between smoking intensity and

subclinical cardiovascular injury: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*. 258:119–130.

Amaral WZ, Krueger RF, Ryff CD, Coe CL. 2016. Genetic and environmental determinants of population variation in interleukin-6, its soluble receptor and C-reactive protein: insights from identical and fraternal Caucasian twins. *Brain Behav Immun.*:171–181.

Ashare RL, Wetherill RR. 2018. The Intersection of Sex Differences, Tobacco Use, and Inflammation: Implications for Psychiatric Disorders. *Curr Psychiatry Rep.* 20(9).

Barros FC, Victora CG, Horta BL, Gigante DP. 2008. Methodology of the pelotas birth cohort study from 1982 to 2004-5, Southern Brazil. *Rev Saude Publica.* 42(SUPPL.2):7–15.

Bielemann RM, Horta BL, Orlandi SP, Barbosa-Silva TG, Gonzalez MC, Assunção MC, Gigante DP. 2016. Is adductor pollicis muscle thickness a good predictor of lean mass in adults? *Clin Nutr.* 35(5):1073–1077.

Borges MC, Oliveira IO, Freitas DF, Horta BL, Ong KK, Gigante DP, Barros AJD. 2017. Obesity-induced hypoadiponectinaemia: The opposite influences of central and peripheral fat compartments. *Int J Epidemiol.* 46(6):2044–2055.

Brant LCC, Nascimento BR, Passos VMA, Duncan BB, Bensenõr IJM, Malta DC, de Souza M de FM, Ishitani LH, França E, Oliveira MS, et al. 2017. Variações e diferenciais da mortalidade por doença cardiovascular no Brasil e em seus estados, em 1990 e 2015: Estimativas do Estudo Carga Global de Doença. *Rev Bras Epidemiol.* 20:116–128.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. 2011. Orientações para a coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde. Brasília : Ministério da Saúde.

Buffarini R, Abdalla S, Weber AM, Costa JC, Menezes AMB, Gonçalves H, Wehrmeister FC, Meausoone V, Darmstadt GL, Victora CG. 2020. The Intersectionality of Gender and

Wealth in Adolescent Health and Behavioral Outcomes in Brazil: The 1993 Pelotas Birth Cohort. *J Adolesc Heal*. 66(1):S51–S57.

Carroll JF, Fulda KG, Chiapa AL, Rodriguez M, Phelps DR, Cardarelli KM, Vishwanatha JK, Cardarelli R. 2009. Impact of race/ethnicity on the relationship between visceral fat and inflammatory biomarkers. *Obesity*. 17(7):1420–1427.

Cartier A, Côté M, Lemieux I, Périusse L, Tremblay A, Bouchard C, Després JP. 2009. Sex differences in inflammatory markers: What is the contribution of visceral adiposity? *Am J Clin Nutr*. 89(5):1307–1314.

Crouch SH, Roux SB Le, Delles C, Graham LA, Schutte AE. 2020. Distinct inflammatory mediator patterns in young black and white adults: The African-predict study. *Cytokine*. 126:154894.

Da silva ICM, Van hees VT, Ramires V V., Knuth AG, Bielemann RM, Ekelund U, Brage S, Hallal PC. 2014. Physical activity levels in three Brazilian birth cohorts as assessed with raw triaxial wrist accelerometry. *Int J Epidemiol*. 43(6):1959–1968.

De França GVA, De Lucia Rolfe E, Horta BL, Gigante DP, Yudkin JS, Ong KK, Victora CG. 2017. Genomic ancestry and education level independently influence abdominal fat distributions in a Brazilian admixed population. *PLoS One*. 12(6):1–13.

Eder K, Baffy N, Falus A, Fulop AK. 2009. The major inflammatory mediator interleukin-6 and obesity. *Inflamm Res*. 58(11):727–736.

Ghanemi A, St-Amand J. 2018. Interleukin-6 as a “metabolic hormone.” *Cytokine*. 112:132–136.

Golzarand M, Toolabi K, Ebrahimi-Mameghani M, Aliasgarzadeh A, Arefhosseini S. 2012. Association between modifiable lifestyle factors and inflammatory markers in patients with metabolic syndrome. *East Mediterr Heal J*. 18(7):735–741.

- Goncalves RB, Coletta RD, Silverio KG, Benevides L, Casati MZ, da Silva JS, Nociti FHJ. 2011. Impact of smoking on inflammation: overview of molecular mechanisms. *Inflamm Res*. 60(5):409–424.
- Gruenewald TL, Cohen S, Matthews KA, Tracy R, Seeman TE. 2009. Association of socioeconomic status with inflammation markers in black and white men and women in the Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *Soc Sci Med*. 69(3):451–459.
- Hamer M, Sabia S, Batty GD, Shipley MJ, Tabak AG, Singh-Manoux A, Kivimaki M. 2012. Physical activity and inflammatory markers over 10 years: follow-up in men and women from the Whitehall II cohort study. *Circulation*. 126(8):928–933.
- Hoffmann SC, Stanley EM, Cox ED, DiMercurio BS, Koziol DE, Harlan DM, Kirk AD, Blair PJ. 2002. Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution. *Am J Transplant*. 2(6):560–567.
- Horta BL, Gigante DP, Gonçalves H, Dos Santos Motta JV, Loret De Mola C, Oliveira IO, Barros FC, Victora CG. 2015. Cohort Profile Update: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol*. 44(2):441-441e.
- Hu M, Yu Z, Luo D, Zhang H, Li J, Liang F, Chen R. 2018. Association between -174G>C polymorphism in the IL-6 promoter region and the risk of obesity A meta-analysis. *Med (United States)*. 97(33).
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. 2019. Desigualdades Sociais por Cor ou Raça no Brasil [accessed 2020 Jan 10]. Rio de Janeiro.
- Jansen H, Samani NJ, Schunkert H. 2014. Mendelian randomization studies in coronary artery disease. *Eur Heart J*. 35(29):1917–1924.
- Klein SL, Flanagan KL. 2016. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*.

16(10):626–638.

Kuriyan R. 2018. Body composition techniques. *Indian J Med Res.* 148(5):648–658.

Kyu HH, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, Abbastabar H, Abd-Allah F, Abdela J, Abdelalim A, et al. 2018. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet.* 392(10159):1859–1922.

Lee JK, Bettencourt R, Brenner D, Le TA, Barrett-Connor E, Loomba R. 2012. Association between serum interleukin-6 concentrations and mortality in older adults: The rancho bernardo study. *PLoS One.* 7(4).

Levitzky YS, Guo CY, Rong J, Larson MG, Walter RE, Keaney JF, Sutherland PA, Vasan A, Lipinska I, Evans JC, Benjamin EJ. 2008. Relation of smoking status to a panel of inflammatory markers: The Framingham offspring. *Atherosclerosis.* 201(1):217–224.

Lima-Costa FM, Rodrigues LC, Barreto ML, Gouveia M, Horta BL, Mambrini J, Kehdy FSG, Pereira A, Rodrigues-Soares F, Victora CG, Tarazona-Santos E. 2015. Genomic ancestry and ethnoracial self-classification based on 5,871 community-dwelling Brazilians (The Epigen Initiative). *Sci Rep.* 5.

Lin YH, Jen MH, Chien KL. 2017. Association between life-course socioeconomic position and inflammatory biomarkers in older age: A nationally representative cohort study in Taiwan. *BMC Geriatr.* 17(1):1–11.

Loucks EB, Pilote L, Lynch JW, Richard H, Almeida ND, Benjamin EJ, Murabito JM. 2010. Life course socioeconomic position is associated with inflammatory markers: The Framingham Offspring Study. *Soc Sci Med.* 71(1):187–195.

Marinho F, de Azeredo Passos VM, Carvalho Malta D, Barboza França E, Abreu DMX,

- Araújo VEM, Bustamante-Teixeira MT, Camargos PAM, da Cunha CC, Duncan BB, et al. 2018. Burden of disease in Brazil, 1990–2016: a systematic subnational analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*. 392(10149):760–775.
- McDade TW, Tallman PS, Adair LS, Borja J, Kuzawa CW. 2011. Comparative insights into the regulation of inflammation: levels and predictors of interleukin 6 and interleukin 10 in young adults in the Philippines. *Am J Phys Anthropol*. 146(3):373–384.
- McEvoy JW, Nasir K, DeFilippis AP, Lima JAC, Bluemke DA, Hundley WG, Barr RG, Budoff MJ, Szklo M, Navas-Acien A, et al. 2015. Relationship of cigarette smoking with inflammation and subclinical vascular disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 35(4):1002–1010.
- Menezes AMB, Oliveira PD, Wehrmeister FC, Assunção MCF, Oliveira IO, Tovo-Rodrigues L, Ferreira GD, Gonçalves H. 2019. Association of modifiable risk factors and IL-6, CRP, and adiponectin: Findings from the 1993 birth cohort, Southern Brazil. *PLoS One*. 14(5):1–18.
- Menezes AMB, Oliveira PD, Wehrmeister FC, Gonçalves H, Assunção MCF, Tovo-Rodrigues L, Ferreira GD, Oliveira IO. 2018. Association between interleukin-6, C-reactive protein and adiponectin with adiposity: Findings from the 1993 pelotas (Brazil) birth cohort at 18 and 22 years. *Cytokine*. 110:44–51.
- Muscatell KA, Brosso SN, Humphreys KL. 2018. Socioeconomic status and inflammation: a meta-analysis. *Mol Psychiatry*.
- Nilsson G, Lekander M, Åkerstedt T, Axelsson J, Ingre M. 2016. Diurnal variation of circulating interleukin-6 in humans: A meta-analysis. *PLoS One*. 11(11):1–17.
- Pou KM, Massaro JM, Hoffmann U, Vasan RS, Maurovich-Horvat P, Larson MG, Keaney JF, Meigs JB, Lipinska I, Kathiresan S, et al. 2007. Visceral and subcutaneous adipose tissue

volumes are cross-sectionally related to markers of inflammation and oxidative stress: The Framingham Heart Study. *Circulation*. 116(11):1234–1241.

Qu D, Liu J, Lau CW, Huang Y. 2014. IL-6 in diabetes and cardiovascular complications. *Br J Pharmacol*. 171(15):3595–3603.

Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. 2000. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 101(15):1767–1772.

Roth GA, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, Abbastabar H, Abd-Allah F, Abdela J, Abdelalim A, et al. 2018. 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. *The Lancet*. 392(10159):1736–1788.

Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, Gregson J, Willeit P, Gorman DN, Gao P, Saleheen D, Rendon A, Nelson CP, et al. 2012. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: A collaborative meta-analysis of 82 studies. *The Lancet*. 379(9822):1205–1213.

Schaper F, Rose-John S. 2015. Interleukin-6: Biology, signaling and strategies of blockade. *Cytokine Growth Factor Rev*. 26(5):475–487.

Schnabel RB, Yin X, Larson MG, Yamamoto JF, Fontes JD, Kathiresan S, Rong J, Levy D, Keaney JFJ, Wang TJ, et al. 2013. Multiple inflammatory biomarkers in relation to cardiovascular events and mortality in the community. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 33(7):1728–1733.

Sotos-Prieto M, Bhupathiraju SN, Falcon LM, Gao X, Tucker KL, Mattei J. 2016. Association between a Healthy Lifestyle Score and inflammatory markers among Puerto Rican adults. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 26(3):178–184.

Stowe RP, Peek MK, Cutchin MP, Goodwin JS. 2010. Plasma cytokine levels in a

population-based study: Relation to age and ethnicity. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 65 A(4):429–433.

Swerdlow DI, Holmes M V., Kuchenbaecker KB, Engmann JEL, Shah T, Sofat R, Guo Y, Chung C, Peasey A, Pfister R, et al. 2012. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: A mendelian randomisation analysis. *The Lancet.* 379(9822):1214–1224.

Vella CA, Allison MA, Cushman M, Jenny NS, Miles MP, Larsen B, Lakoski SG, Michos ED, Blaha MJ. 2017. Physical Activity and Adiposity-related Inflammation: The MESA. *Med Sci Sports Exerc.* 49(5):915–921.

Victora CG, Barros FC. 2006. Cohort Profile : The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol.* 35:237–242.

Victora CG, Huttly SR, Fuchs SC, Olinto MTA. 1997. The role of conceptual frameworks in epidemiological analysis: A hierarchical approach. *Int J Epidemiol.* 26(1):224–227.

World Health Organization. 2018. HEARTS Technical package for cardiovascular disease management in primary health care: healthy-lifestyle counselling. World Health Organization, editor. Geneva.

World Health Organization. 2000. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic - WHO Technical Report Series. WHO Technical Report Series no. 894, editor. Geneva.

World Health Organization. 2001. Alcohol Use Disorder Identification Test. Second Edi. World Health Organization, editor. Geneva.

World Health Organization. 2013. Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. Geneva.

Yudkin JS, Kumari M, Humphries SE, Mohamed-Ali V. 2000. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: Is interleukin-6 the link? *Atherosclerosis.* 148(2):209–214.

Acknowledgements

The authors thank the staff and participants of the Pelotas Birth Cohort, 1982 and Postgraduate Program in Epidemiology for their important contributions.

Funding

This article is based on data from the study "Pelotas Birth Cohort, 1982" conducted by the Postgraduate Program in Epidemiology at Universidade Federal de Pelotas with the collaboration of the Brazilian Public Health Association (ABRASCO). From 2004 to 2013, the Wellcome Trust supported the 1982 birth cohort study. The International Development Research Center, World Health Organization, Overseas Development Administration, European Union, National Support Program for Centers of Excellence (PRONEX), the Brazilian National Research Council (CNPq), and the Brazilian Ministry of Health supported previous phases of the study. CNPq supported the interleukin-6 measures. The publication of this paper was partially supported by PRPPGI/UFPel and Coordination of Improvement of Higher Education Personnel CAPES. FSS receives financial support from CAPES (finance code 001) and CNPq (process: 201725/2019-3).

Disclosure statement

The authors declare no potential conflict of interest.

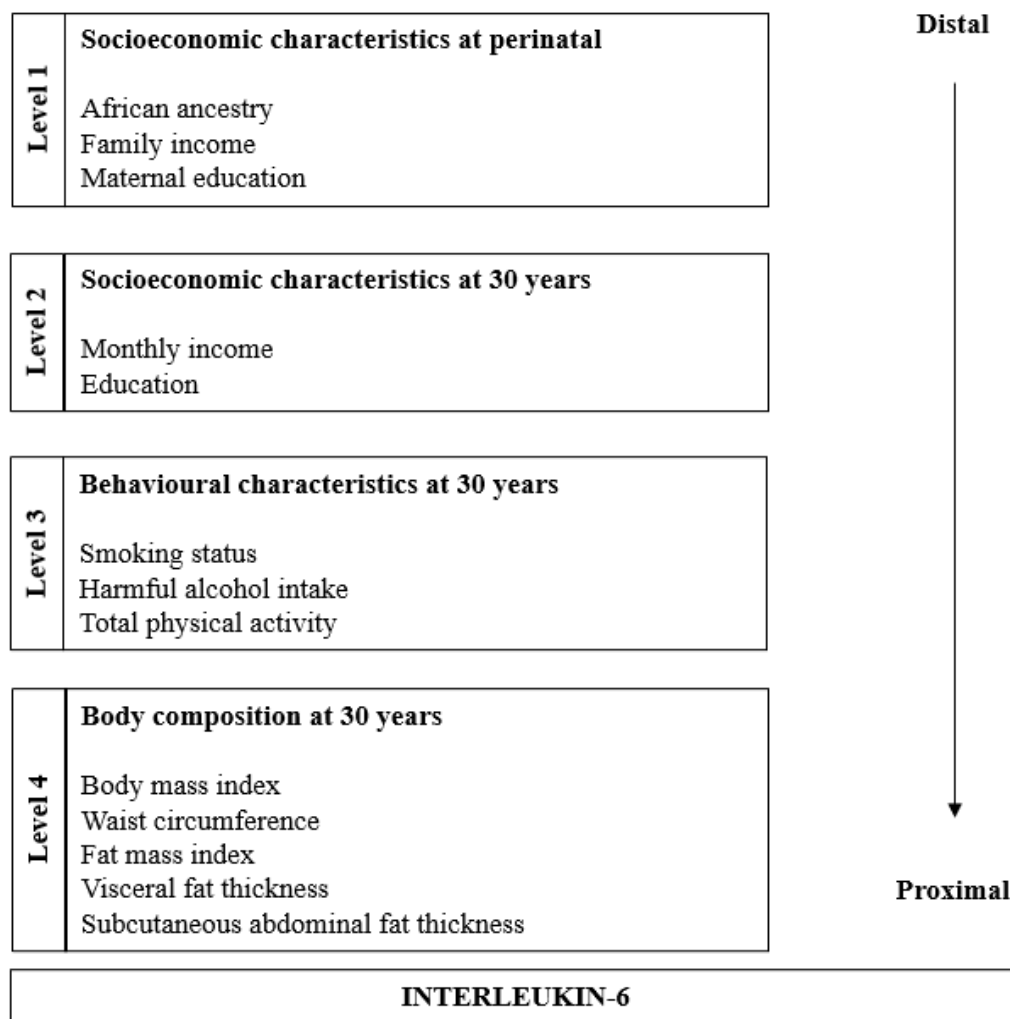


Figure 1. Conceptual framework illustrating the hierarchical relationships between ancestry and socioeconomic characteristics at early life, socioeconomic characteristics at adulthood, behavioural variables at 30 years old, and different measures of body composition with interleukin-6 (IL-6).

Table 1. Description and means interleukin-6 concentration according to independent variables in the 1982 Pelotas Birth Cohort (2012-2013), males (n 1369)

<i>Independent variables</i>	n (%)	Unadjusted		Adjusted		Level ^b
		<i>p-value</i> mean	(95% CI)	<i>p-value</i> mean	(95% CI)	
<i>African ancestry (%)</i>		<i>p = 0.18</i>		<i>p = 0.16</i>		1
0.00 - 4.59 ^a	448 (33.4)	1.42	(1.34; 1.50)	1.41	(1.33; 1.49)	
4.60 - 10.99	445 (33.2)	1.53	(1.44; 1.61)	1.52	(1.44; 1.61)	
11.00 - 87.91	447 (33.4)	1.47	(1.39; 1.55)	1.48	(1.40; 1.57)	
<i>Family income at birth (terciles)</i>		<i>p = 0.15</i>		<i>p = 0.16</i>		1
1st (poorer)	432 (31.6)	1.41	(1.34; 1.49)	1.42	(1.33; 1.52)	
2nd	491 (35.8)	1.52	(1.45; 1.60)	1.53	(1.45; 1.62)	
3rd (richer) ^a	446 (32.6)	1.45	(1.37; 1.53)	1.45	(1.35; 1.55)	
<i>Maternal education (complete years)</i>		<i>p = 0.81</i>		<i>p = 0.96</i>		1
0-4	448 (32.8)	1.44	(1.36; 1.52)	1.45	(1.36; 1.54)	
5-8	607 (44.4)	1.48	(1.42; 1.55)	1.47	(1.40; 1.55)	
9-11	146 (10.7)	1.49	(1.35; 1.64)	1.50	(1.35; 1.67)	
≥12 ^a	165 (12.1)	1.44	(1.32; 1.58)	1.48	(1.33; 1.65)	
<i>Monthly income (R\$)</i>		<i>p = 0.16^d</i>		<i>p = 0.36</i>		2
1st (0 – 700)	264 (19.4)	1.54	(1.43; 1.65)	1.53	(1.42; 1.65)	
2nd (738 – 1500)	530 (38.9)	1.45	(1.38; 1.53)	1.44	(1.36; 1.51)	
3rd (1590 - 19000) ^a	567 (41.7)	1.44	(1.37; 1.51)	1.47	(1.39; 1.54)	
<i>Education (complete years)</i>		<i>p = 0.06</i>		<i>p = 0.04</i>		2
0–4	87 (6.4)	1.51	(1.33; 1.71)	1.54	(1.36; 1.75)	
5–8	304 (22.4)	1.49	(1.39; 1.59)	1.51	(1.41; 1.62)	
9–11	440 (32.5)	1.53	(1.45; 1.62)	1.54	(1.45; 1.63)	
≥12 ^a	525 (38.7)	1.39	(1.32; 1.46)	1.38	(1.30; 1.45)	
<i>Smoking status</i>		<i>p < 0.001^d</i>		<i>p = 0.01^d</i>		3
Never smoked ^a	767 (56.4)	1.40	(1.34; 1.46)	1.40	(1.34; 1.47)	
Former smoker	229 (16.9)	1.47	(1.36; 1.59)	1.48	(1.36; 1.61)	
Current smoker	363 (26.7)	1.60	(1.50; 1.70)	1.57	(1.47; 1.69)	
<i>Harmful alcohol intake (AUDIT)</i>		<i>p = 0.02</i>		<i>p = 0.05</i>		3
No ^a	879 (64.7)	1.42	(1.37; 1.48)	1.42	(1.36; 1.49)	
Yes	479 (35.3)	1.54	(1.46; 1.62)	1.53	(1.44; 1.63)	
<i>Total physical activity^c</i>		<i>p 0.16^d</i>		<i>p = 0.08^d</i>		3
1st (0 – 8.33)	284 (26.7)	1.51	(1.41; 1.61)	1.53	(1.42; 1.63)	
2nd (8.62 – 26.83)	334 (31.5)	1.47	(1.38; 1.57)	1.47	(1.38; 1.57)	
3rd (27.10 – 253.70) ^a	443 (41.8)	1.42	(1.34; 1.50)	1.41	(1.34; 1.49)	

Regressions performed with interleukin-6 on logarithmic scale – results presented in exponential means. ^areference category; ^badjusted for variables in the same and distal levels of determination with p-value < 0.20; ^cvariable with more missing data (n = 1061), and ^dlinear trend test.

Abbreviations: AUDIT, Alcohol Use Disorder Identification Test.

Table 2. Description and means interleukin-6 concentration according to independent variables in the 1982 Pelotas Birth Cohort (2012-2013), females (n 1440)

<i>Independent variables</i>	n (%)	Unadjusted		Adjusted		Level ^b
		<i>p-value</i> mean	(95% CI)	<i>p-value</i> mean	(95% CI)	
<i>African ancestry (%)</i>		<i>p</i> = 0.001		<i>p</i> = 0.004		1
0.00 - 4.59 ^a	459 (32.8)	1.47	(1.39; 1.55)	1.48	(1.40; 1.57)	
4.60 - 10.99	470 (33.6)	1.44	(1.36; 1.52)	1.44	(1.36; 1.52)	
11.00 - 87.91	469 (33.6)	1.65	(1.56; 1.75)	1.64	(1.55; 1.74)	
<i>Family income at birth (terciles)</i>		<i>p</i> = 0.07 ^d		<i>p</i> = 0.83		1
1st (poorer)	472 (32.8)	1.64	(1.55; 1.74)	1.49	(1.39; 1.59)	
2nd	532 (36.9)	1.57	(1.49; 1.66)	1.53	(1.45; 1.62)	
3rd (richer) ^a	436 (30.3)	1.52	(1.44; 1.62)	1.54	(1.42; 1.66)	
<i>Maternal education (complete years)</i>		<i>p</i> = 0.02		<i>p</i> = 0.13		1
0-4	495 (34.4)	1.57	(1.49; 1.66)	1.57	(1.47; 1.67)	
5-8	614 (42.7)	1.52	(1.45; 1.59)	1.52	(1.44; 1.59)	
9-11	154 (10.7)	1.58	(1.43; 1.74)	1.57	(1.41; 1.74)	
≥12 ^a	175 (12.2)	1.33	(1.22; 1.46)	1.36	(1.21; 1.52)	
<i>Monthly income (R\$)</i>		<i>p</i> = 0.002		<i>p</i> = 0.04^d		2
1st (0 - 700)	714 (50.0)	1.59	(1.52; 1.66)	1.55	(1.48; 1.63)	
2nd (703 - 1500)	442 (30.9)	1.50	(1.42; 1.58)	1.51	(1.43; 1.60)	
3rd (1580 - 12000) ^a	273 (19.1)	1.39	(1.29; 1.49)	1.44	(1.33; 1.57)	
<i>Education (complete years)</i>		<i>p</i> = 0.09^d		<i>p</i> = 0.17		2
0-4	84 (5.9)	1.69	(1.49; 1.92)	1.63	(1.42; 1.87)	
5-8	259 (18.2)	1.67	(1.56; 1.80)	1.63	(1.51; 1.77)	
9-11	418 (29.4)	1.51	(1.42; 1.60)	1.49	(1.40; 1.58)	
≥12 ^a	663 (46.5)	1.45	(1.38; 1.52)	1.48	(1.41; 1.56)	
<i>Smoking status</i>		<i>p</i> = 0.31 ^d		<i>p</i> = 0.83		3
Never smoked ^a	848 (59.5)	1.50	(1.44; 1.56)	1.53	(1.46; 1.60)	
Former smoker	267 (18.8)	1.54	(1.43; 1.65)	1.54	(1.42; 1.67)	
Current smoker	309 (21.7)	1.56	(1.46; 1.67)	1.49	(1.38; 1.61)	
<i>Harmful alcohol intake (AUDIT)</i>		<i>p</i> = 0.18		<i>p</i> = 0.44		3
No ^a	1272 (89.3)	1.51	(1.46; 1.56)	1.51	(1.46; 1.57)	
Yes	153 (10.7)	1.62	(1.47; 1.78)	1.59	(1.42; 1.77)	
<i>Total physical activity^c</i>		<i>p</i> = 0.004^d		<i>p</i> = <0.001^d		3
1st (0 - 8.23)	465 (39.6)	1.60	(1.52; 1.69)	1.63	(1.54; 1.73)	
2nd (8.58 - 26.57)	400 (34.7)	1.52	(1.43; 1.61)	1.51	(1.42; 1.60)	
3rd (26.97 - 125.40) ^a	299 (25.7)	1.41	(1.32; 1.51)	1.37	(1.28; 1.47)	

Regressions performed with interleukin-6 on logarithmic scale – results presented in exponential means. ^areference category; ^badjusted for variables in the same and distal levels of determination with *p*-value < 0.20; ^cvariable with more missing data (n = 1164), and ^dlinear trend test.

Abbreviations: AUDIT, Alcohol Use Disorder Identification Test.

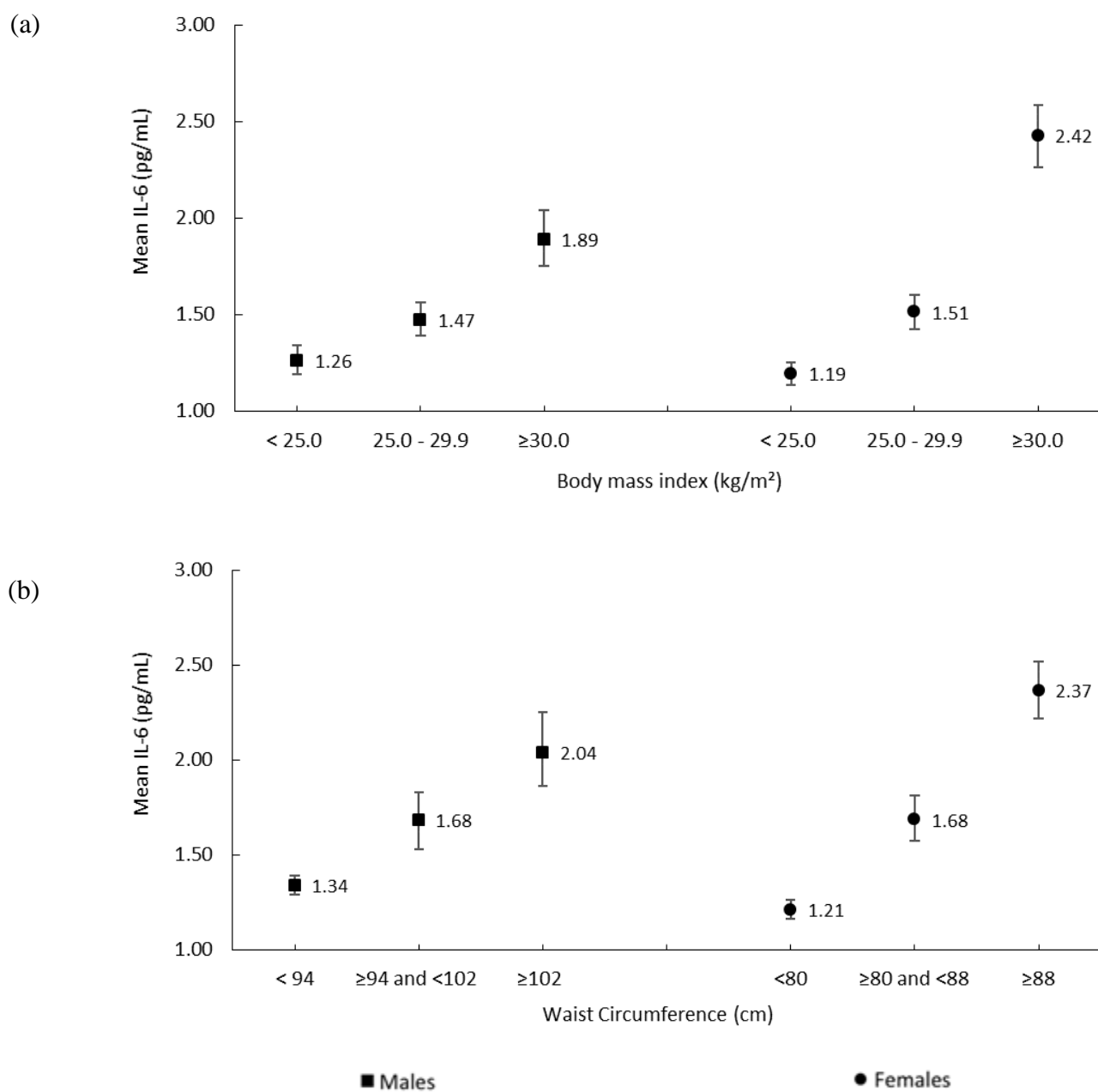


Figure 2. Distribution of mean interleukin-6 (IL-6) according to (a) body mass index [males (n=1031); females (n=1115)] and (b) waist circumference [males (n=1031); females (n=1122)] in the 1982 Pelotas Birth Cohort (2012-2013). Values are exponential means, with their 95% CI represented by vertical bars. Males adjusted for African ancestry, family income at birth, education at 30 years old, smoking status, harmful alcohol intake, and total physical activity. Females adjusted for African ancestry, maternal education at birth, monthly income and education at 30 years old, and total physical activity. Both P-value of linear trend test < 0.001.

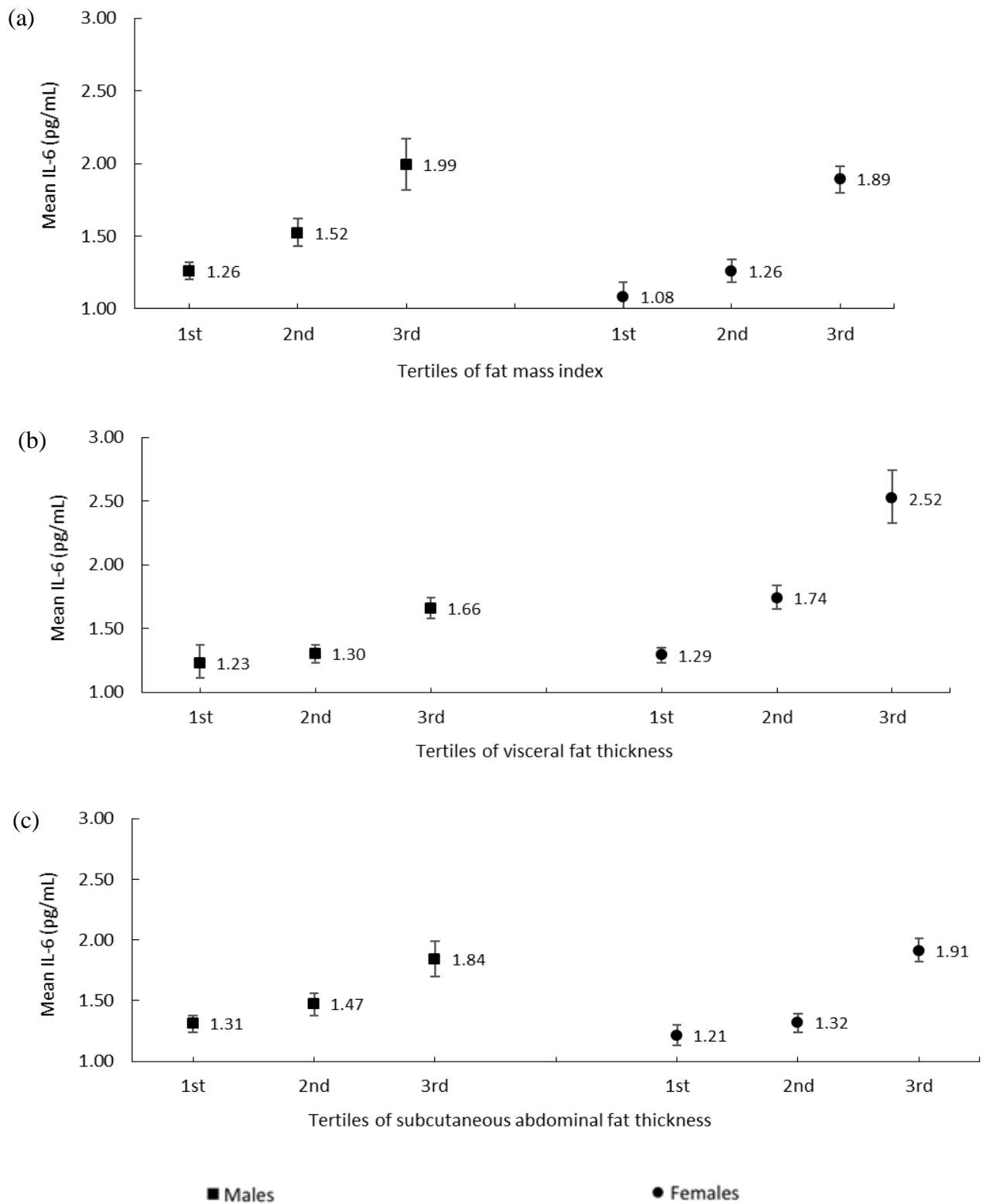


Figure 3. Distribution of mean interleukin-6 (IL-6) according to (a) fat mass index [males (n=989); females (n=1102)]; (b) visceral fat thickness [males (n=1013); females (n=1111)]; and (c) subcutaneous fat thickness [males (n=1021); females (n=1114)] in the 1982 Pelotas Birth Cohort (2012-2013). Values are exponential means, with their 95% CI represented by vertical bars. Males adjusted for African ancestry, family income at birth, education at 30 years old, smoking status, harmful alcohol intake, and total physical activity. Females adjusted for African ancestry, maternal education at birth, monthly income and education at 30 years old, and total physical activity. All P-value of linear trend test < 0.001.

Supplemental Table 1. Comparison between the Pelotas (Brazil) 1982 birth cohort and sample with interleukin-6 data, according to selected variables.

Variables	Original number of participants 1982		Sample	
	n (%)	95% CI	n (%)	95% CI
Sex	5913		2809	
Males	3037 (51.4)	50.0 - 52.6	1369 (48.7)	46.9 - 50.6
Females	2876 (48.6)	47.4 - 49.9	1440 (51.3)	49.4 - 53.1
Family income at birth (terciles)	5914		2809	
1 st	1963 (33.2)	32.0 - 34.4	904 (32.0)	30.5 - 33.9
2nd	1979 (33.5)	32.3 - 34.7	1023 (36.4)	34.7 - 38.2
3 rd	1972 (33.3)	32.2 - 34.6	882 (31.4)	29.7 - 33.1
Maternal age (y)	5913		2809	
<20	912 (15.4)	14.5 - 16.4	413 (14.7)	13.4 - 16.1
20-29	3442 (58.2)	56.9 - 59.5	1605 (57.1)	55.3 - 59.0
≥30	1559 (26.4)	25.3 - 27.5	791 (28.2)	26.5 - 29.9
Maternal education at birth (complete years)	5907		2804	
0-4	1960 (33.2)	32.0 - 34.4	943 (33.6)	31.9 - 35.4
5-8	2454 (41.5)	40.3 - 42.8	1221 (43.5)	41.7 - 45.4
9-11	654 (11.1)	10.3 - 11.9	300 (10.7)	9.6 - 11.9
≥12	839 (14.2)	13.3 - 15.1	340 (12.1)	11.0 - 13.4
Birthweight (g)	5909		2808	
< 2500	534 (9.0)	8.3 - 9.8	191 (6.8)	5.9 - 7.8
≥ 2500	5375 (91.0)	90.2 - 91.7	2617 (93.2)	92.2 - 94.1

Bold font indicates statistically significant difference (p value < 0.05).

Supplemental Table 2. Distribution of body composition variables by sex. 1982 Pelotas Birth Cohort (2012-2013)

Body composition variables	Males n (%)	Females n (%)
<i>BMI (kg/m²)</i> - mean (sd)	27.1 (5.1)	26.8 (6.1)
<i>BMI (kg/m²)</i>		
Underweight/Normal	507 (37.31)	681 (47.8)
Overweight	563 (41.4)	409 (28.7)
Obese	289 (21.3)	334 (23.5)
<i>WC (cm)</i> - mean (sd)	88.9 (11.5)	80.5 (11.9)
<i>WC (cm)</i>		
Normal	964 (70.7)	806 (56.2)
Increased risk of metabolic complications	212 (15.6)	294 (20.5)
Substantially increased risk of metabolic complications	187 (13.7)	335 (23.3)
<i>Fat mass index (kg/m² DXA)</i> - mean (sd)	6.7 (3.2)	10.6 (4.3)
<i>Fat mass index (kg/m² DXA)</i>		
1st	666 (51.3)	228 (16.3)
2nd	429 (33.0)	485 (34.6)
3rd	204 (15.7)	690 (49.2)
<i>Visceral fat thickness (cm)</i> -median (IQR)	6.6 (5.5; 8.0)	4.6 (3.7; 5.7)
<i>Visceral fat thickness (cm)</i>		
1st	155 (11.6)	780 (55.1)
2nd	500 (37.3)	443 (31.3)
3rd	684 (51.1)	192 (13.6)
<i>Subcutaneous abdominal fat thickness (cm)</i> - median (IQR)	1.8 (1.2; 2.4)	2.4 (1.7; 3.3)
<i>Subcutaneous abdominal fat thickness (cm)</i>		
1st	609 (45.1)	332 (23.4)
2nd	453 (33.6)	475 (33.5)
3rd	288 (21.3)	612 (43.1)

Abbreviations: BMI, body mass index; WC, waist circumference; IQR, interquartile range and sd, standard deviation.
The total of some variables does not sum to 2809, 1369 males or 1440 females because of missing data.

ARTIGO ORIGINAL 2

Será submetido ao *The Journal of Nutrition*

Consumption of ultra-processed foods and interleukin-6 in two cohorts from high- and middle-income countries

Francine Silva dos Santos¹, Gicele Costa Mintem², Isabel Oliveira de Oliveira¹, Bernardo Lessa Horta¹, Elisabete Ramos^{3,4}, Carla Lopes^{3,4}, and Denise Petrucci Gigante^{1,2}

¹Programa de pós-graduação em Epidemiologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil; ²Programa de pós-graduação em Nutrição e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil; ³EPIUnit - Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto, Porto, Portugal; and ⁴Departamento de Ciências da Saúde Pública e Forenses e Educação Médica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

Corresponding Author

Francine Silva dos Santos (nutrifrancinesantos@gmail.com)

Rua Marechal Deodoro, 1160 – 3º andar; Pelotas – RS; CEP 96020-220

Sources of support

The data used from the EPITeen cohort were supported by grants from the Portuguese Foundation for Science and Technology: PTDC/DTP-EPI/6506/2014 and UIDB/04750/2020.

The study "Pelotas Birth Cohort, 1982" was conducted by the Postgraduate Program in Epidemiology at Universidade Federal de Pelotas with the collaboration of the Brazilian Public Health Association (ABRASCO). From 2004 to 2013, the Wellcome Trust supported the 1982 birth cohort study. The International Development Research Center, World Health

Organization, Overseas Development Administration, European Union, National Support Program for Centers of Excellence (PRONEX), the Brazilian National Research Council (CNPq), and the Brazilian Ministry of Health supported previous phases of the study. CNPq supported the interleukin-6 measures. FSS received financial support from CAPES (finance code 001) and CNPq (process: 201725/2019-3).

Author disclosures: The authors report no conflicts of interest.

Running title: Ultra-processed foods and interleukin-6

Abbreviations used: Brazilian Table of Food Composition, TACO; Epidemiological Health Investigation of Teenagers in Porto, EPITeen; Food frequency questionnaire, FFQ; Interleukin-6, IL-6; International Physical Activity Questionnaire, IPAQ; Ultra-processed foods, UPF; and United States, US.

Abstract

Background: Longitudinal evidence of the ultra-processed foods (UPF) consumption on chronic low-grade inflammation is lacking.

Objective: To evaluate the association between UPF consumption on serum interleukin-6 (IL-6), and to investigate the mediation role of adiposity.

Methods: We used data from the EPITeen (n 524, Porto, Portugal) and the 1982 Pelotas Birth Cohort (n 2888, Pelotas, Brazil) studies. Information about dietary intake was collected by food frequency questionnaire of participants aged 21 years in the EPITeen and 23 years in the Pelotas cohort. Serum IL-6 and body fat mass were evaluated in the 27-years and 30-years follow-ups in the EPITeen and Pelotas cohorts, respectively. The association between UPF consumption and IL-6 concentration was investigated through linear regression models adjusted for socioeconomic and behavior variables. Mediation of body fat mass was estimated using G-computation. All analyses were stratified by sex.

Results: Females from the EPITeen belonging to the third (2.20 pg/mL; 95% CI 1.60; 3.01) and fourth (2.64 pg/mL; 95% CI 1.89; 3.69) quartiles of UPF consumption had higher mean IL-6 compared to those from the first quartile (1.31 pg/mL; 95% CI 0.95; 1.82). In Pelotas, males who were within the third (1.50 pg/mL; 95% CI 1.41; 1.59) and fourth (1.59 pg/mL; 95% CI 1.49; 1.70) quartiles of UPF consumption had higher means of IL-6 than those from the first (1.40 pg/mL; 95% CI 1.32; 1.49). The p-value for linear trend was <0.01 in both findings. The indirect effect through total fat mass percentage was not significant.

Conclusion: Our findings suggest that the consumption of UPF was associated with an increase in IL-6 concentration, but sex difference was found between the two cohorts. Mediation analysis showed that the association between UPF consumption and IL-6 was not explained by adiposity.

Keywords: food consumption, inflammation, interleukin-6, adults, cohort studies.

Introduction

Ultra-processed foods (UPF) comprise a group within the NOVA classification system, where the foods are classified according to the extent and purpose of industrial processing (1). These foods are made with several ingredients, mostly of exclusive industrial use, and are the result of a series of industrial processes(1). The UPF consumption predicts a negative impact on diet quality because they are usually high-energy-dense; have high quantities of sugar, sodium, and saturated and trans fats; and low dietary fiber, proteins, vitamins, and minerals (2–7). In the gut microbiome, UPF promote changes that stimulate diverse forms of inflammatory diseases (8). All these characteristics may associate the consumption of UPF with an increase in inflammation.

Inflammation is a defence mechanism of the organism in reaction to infection and other injuries, intending to restore physiological homeostasis (9). Failure in the inflammatory response or continuous exposure to the triggering agent results in chronic inflammation (10). Chronic inflammation may be classified in high or low grade, being the latter characterized for minimal or absents clinical manifestations, and a modest increase in the systemic circulation of inflammatory biomarkers and inflammatory cells (10). In this sense, interleukin-6 (IL-6), an inflammatory biomarker has received highlight in literature as a possible causal factor of cardiovascular event (11,12), which is the main cause of mortality in the world (13).

Previous studies observed a positive association between the Western dietary pattern and serum concentration of IL-6 (14–16), being this dietary pattern characterized by the presence of UPF (8). On the other hand, the Mediterranean dietary pattern decreases IL-6 concentrations according to a meta-analysis of clinical trials (17). Only a study conducted in Brazil evaluated the consumption of UPF and an inflammatory biomarker, in which a cross-

sectional positive association was observed between exposure and serum C-reactive protein concentration among women, but the significance was lost after adjusting for obesity measures (18), suggesting that body composition may be a mediator of this association. Evidence from longitudinal studies showed that UPF consumption is a risk factor for obesity (19–21). The low-grade chronic inflammation is present in obesity physiopathology (9) and the highest mean of IL-6 has been found among obese people (22,23).

An approach to investigate the causal relationships in observational studies is to evaluate the associations in distinct confounding settings. In this approach, consistent results indicate that the association could be causal. Whether the result does not reproduce in both settings, the associations may reflect residual confounding (24). In the present study, comparing the associations in two cohorts from Portugal and Brazil, with socioeconomic differences, if consistent, may strengthen the findings. Furthermore, to our knowledge, there was no prospective study that investigated the relationship of UPF, according to NOVA classification, and serum IL-6 until the current study. Therefore, we aimed to evaluate the association between UPF consumption and low-grade chronic inflammation, measured by IL-6 concentration, and to investigate the mediation role of adiposity, exploring data from two population-based cohorts from high- and middle-income countries.

Methods

EPITeen

The Epidemiological Health Investigation of Teenagers in Porto (EPITeen) is a population-based cohort that recruited adolescents born in 1990 and enrolled at public and private schools in Porto, Portugal, during 2003-2004. Among eligible individuals identified, 2159 (77.5%) agreed to participate. Three years after, at the second follow-up, 1716 (79.4%) adolescents participated, and a new group of 783 adolescents integrated the cohort for the

first time as they moved to the schools of Porto. At the third evaluation (2011-2013), 1764 (60.0% of the entire cohort) participants were then re-evaluated. The fourth and fifth waves in 2014-2015 and 2017-2018 obtained a follow-up rate of 37.2% (n 1094 participants) and 42.3% (n 1244 participants), respectively. Further details on the study methodology have been published elsewhere (25).

At the 27 years follow-up 598 participants had IL-6 measurement data. Participants who presented IL-6 concentration above the 10 pg/mL (n 32), and those (n 42) with an energy intake \leq 1st percentile [4486.47 kJ/d (1071.576 kcal/d)] or \geq 99th percentile [19157.8 kJ/d (4575.763 kcal/d)] were excluded. Forty-three participants (7.2% of the sample) presented values below the detection limit (0.11 pg/mL) and were assigned a value equal to half the detection limit (26). For the present analysis, the final sample consisted of 524 participants (n 236 males).

Pelotas

The 1982 Pelotas Birth Cohort is a population-based study conducted in Pelotas, a city in the extreme south of Brazil, with 214000 inhabitants that year. The original cohort included 5914 live births whose families lived in the urban area of the city (99.2% of eligible). This cohort is described in detail elsewhere (27–29). For the current analysis, we used data from 2004-2005 and 2012-2013 waves. Considering the known deaths, the follow-up rates were 77.4% [n 4297 participants (n 282 deaths)] at the 23 years and 68.1% [n 3701 participants (n 325 deaths)] at the 30 years evaluations.

Out of 2988 participants with IL-6 information at age of 30 years, 46 individuals were excluded due to IL-6 serum concentration above the 10 pg/mL, and 54 with an energy intake \leq 1st percentile [4939.7 kJ/d (1179.8 kcal/d)] or \geq 99th percentile [49418.6 kJ/d

(11803.4 kcal/d)]. Therefore, the final sample comprised 2888 cohort members (n 1402 males).

Exposure variable

In the EPITeen cohort, information on food consumption was recorded by semiquantitative food frequency questionnaire (FFQ) of the previous 12 months applied at the third wave (2011-2013 - 21 years of age). The FFQ previously designed according to Willett and colleagues (30) was adapted and validated (31,32) for the adult Portuguese population. This instrument comprised 86 food or beverage items and a frequency section with nine possible responses ranging from *never* to ≥ 6 *times a day*. Intake of energy and nutrient were computed by multiplying the frequency of consumption for each FFQ item by the nutrient content of a standard portion, with once a day equal to one. Seasonal variation of food consumption was also considered according to participants' report. The energy and nutrient intake were estimated using the software Food Processor Plus (version 7.2, 1997, ESHA Research, Salem, OR, USA), based on the U.S. Department of Agriculture (USDA). Values for typical Portuguese foods were measured using the Portuguese Tables of Food Composition, typical recipes, and data from other studies, as previously described (31,32).

At the 23 years follow-up in the Pelotas cohort (2004-2005), food consumption of the previous 12 months was evaluated by the QFA developed and validated by Sichieri and colleagues (33), containing 85 food or beverage items. The current analysis was performed with data from 70 items with information about the frequency of consumption and the specified portion. To estimate the intake of energy and nutrients the consumption frequency of each item was multiplied by the nutrient content of the specified portion. This computation was conducted with the Brazilian Table of Food Composition (TACO). Alternatively, the

USDA values were used for the foods not found in the Brazilian table. Details of this methodological approach were previously described (34).

In both studies, the items from the FFQs were classified based on the extent and purpose of their processing into four groups according to the NOVA classification (35,36). Group 1 comprised unprocessed or minimally processed foods; group 2, processed culinary ingredients; group 3, processed foods; and group 4, UPF (35,36). Supplemental Table 1 shows the classification of all items included in the FFQs according to NOVA classification. The percentage of energy from each food group was calculated, relative to the total energy intake. The main exposure of this study was the percentage of energy from UPF.

Outcome variable

The majority of blood samples were collected between 08:00 am and 10:00 am after 12 hours overnight fast in the EPITeen cohort. Interleukin-6 at 27 years was measured using the Luminex technology using the MILLIPLEX® Human High Sensitivity T Cell Panel in the Clinical Pathology Department of the São João Hospital Center, Porto.

In the Pelotas cohort, non-fasting blood samples were taken from 08:00 am to 08:30 pm. The exclusion criterion for blood samples collecting was pregnancy. All samples were processed in the laboratory from the Epidemiological Research Center in the Federal University of Pelotas. Serum concentrations of IL-6 at 30 years were measured in duplicate by the Quantikine® HS Human IL-6 immunoassay kit (R&D Systems®, Inc.; Minneapolis, MN55413, USA) and SpectraMax 190 microplate spectrophotometer (Molecular Devices Corp, California, USA).

Mediator

The total fat mass percentage was assessed using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) in both cohorts according to standardized procedures (37).

Confounders

The confounders were extracted through standard questionnaires in both studies. Data regarding confounders were measured at the 21 and 23 years-old follow-ups in the EPITeen and Pelotas cohorts, respectively. Two groups of covariates were considered for adjustment analysis:

(i) *Socioeconomic Characteristics*. In the EPITeen study, <parental education> information was considered for the parent with the highest education level. The number of completed years of formal education was categorized as ‘low’ (0-9 years of education), ‘intermediate’ (10-12 years of education), and ‘high’ (> 12 years of education). From Pelotas study were included <self-reported skin color> according to the categories proposed by the Brazilian Institute of Geography and Statistics; <monthly income> collected in Brazilian reals; and <education of cohort member> classified in ‘low’ (0-8 years of education), ‘intermediate’ (9-11 years of education), and ‘high’ (≥ 12 years of education), considering the highest education level of years completed.

(ii) *Health behaviors characteristics*. In both studies, the participants replied about the <current smoking status> (no/yes). In the EPITeen cohort <leisure physical activity> was classified as ‘low’, ‘moderate’, and ‘high’ according to answers to a multiple-choice question proposing three subjective intensity categories (mainly sitting, standing/walking, very active) (38). In the Pelotas Cohort, the participants answered the leisure-time domain of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ), long version (39). We used the information from IPAQ in tertiles classifying the individuals in “low” (first tertile), “moderate” (second tertile), and “high” (third tertile) level of leisure physical activity.

Furthermore, we conducted analyses adjusted to energy intake from other food sources than UPF (group 1 + group 2 + group 3).

Ethics statement

Ethical approval of the EPITeen cohort was obtained from the Ethics Committee of Hospital S. João, Porto, Portugal. The follow-ups of the 1982 Pelotas Birth Cohort were approved by the Federal University of Pelotas Ethics Committee, Pelotas, Brazil. Written informed consent was obtained from the participants in both studies.

Statistical analysis

The descriptive analyses were performed using absolute and relative frequencies for categorical variables, and as mean and standard deviation or median and interquartile range for continuous variables.

Crude and adjusted linear regression models were used to assess the associations of UPF consumption (exposure), total fat mass percentage (mediator), and IL-6 concentration (outcome), with a significance level of 5%. To include covariables as potential confounders, we decided to be consistent with the model previously developed (Supplemental Figure 1). The normality of residuals and homoscedasticity (homogeneity of variance) were tested graphically. Variance inflation factor was used to assess collinearity between potential confounders included in the model.

Direct and indirect effects of UPF consumption on IL-6 concentration were estimated using G-computation (40,41). The natural direct effect (NDE) represents the effect of the main exposure on the IL-6 concentrations that is not captured by the mediator. The natural indirect effect (NIE) indicates the effect captured by the mediator, total fat mass percentage. The total effect is the sum of the NDE and NIE. In the mediation analysis, socioeconomic and health behaviors characteristics were considered as base confounders, and energy from other food sources than UPF, post confounder.

We used the percentage of energy from UPF categorized into quartiles (Supplemental Table 2 shows the quartiles range). Supplementary analyses showed the results according to the UPF consumption as a continuous variable in grams, energy, and energy percentage. IL-6 (pg/mL) was assessed continuously and log-transformed due to their asymmetric distribution. Sensitivity analysis was conducted to evaluate the robustness of our findings. The linear regression models were rerunning considering breads in the group of UPF. As significant statistical interaction by sex was found in the association of UPF consumption and IL-6, data were analyzed stratified for males and females in both cohorts. All analyses were conducted using the Stata statistical software (StataCorp LP, College Station, United States), version 14.0.

Results

A total of 524 participants (45.0% males) of the EPITeen and 2888 (48.5% males) of the Pelotas were included in the current study. Table 1 describes the characteristics of the individuals included in the analyses. In the EPITeen cohort, more than one-third of the participants' parents had a high education level. Males smoked more and were more physically active compared to females. The members of the 1982 Pelotas Cohort had predominantly skin color white. Men were wealthiest and physically active than women. About half of the participants belong to the intermediate category of education. The current smoke was similar among males (25.7%) and females (22.6%). Females presented the highest total fat mass percentage in both studies.

The IL-6 concentration was more elevated among the EPITeen participants', 2.59 pg/mL (1.40; 4.10) for males and 2.72 pg/mL (1.60; 4.43) for females likely due to the measurement method (42). In the Pelotas participants, the IL-6 concentrations were 1.36 pg/mL (IQR 0.98; 2.06) for males and 1.44 pg/mL (IQR 0.97; 2.27) for females (Table 1). In

the EPITeen, UPF represented 25.0% (males) and 24.2% (females) of total energy intake. In the Pelotas cohort, these products represented 19.2% and 20.5% of the males' and females' total energy intake, respectively (Table 2). Table 2 also shows the data for daily consumption of UPF in grams and energy. The associations among covariates with median IL-6 and consumption of UPF were presented in Supplemental Table 3 and Supplemental Table 4, respectively.

In the adjusted models (Table 3), a positive relationship was observed between UPF consumption and IL-6 concentrations among females in the EPITeen and males in the Pelotas cohort. Females belonging to the third (2.20 pg/mL; 95% CI 1.60; 3.01) and the fourth (2.64 pg/mL; 95% CI 1.89; 3.69) quartiles of UPF consumption had a significantly higher mean of IL-6 compared with those in the first quartile (1.31 pg/mL; 95% CI 0.95; 1.82). In the Pelotas cohort, those males within third (1.50 pg/mL; 95% CI 1.41; 1.59) and fourth (1.59 pg/mL; 95% CI 1.49; 1.70) quartiles of UPF consumption had significantly higher means of IL-6 than those in the first quartile (1.40 pg/mL; 95% CI 1.32; 1.49). Similar results were obtained when using the energy of the UPF in the EPITeen, and grams of the UPF in the Pelotas (Supplemental Table 5). The findings remained robust throughout the sensitivity analysis (Supplemental Table 6).

The association between IL-6 concentration and quartile of UPF consumption, according to total fat mass percentage was presented in Figure 1. No association between total fat mass percentage and IL-6 concentration was found in the EPITeen. In the Pelotas cohort, a strong association between total fat mass percentage and IL-6 concentrations was observed among males, represented by the three separate lines. Besides, in the Brazilian cohort, females in the third tertile of total fat mass percentage had the highest mean of IL-6 than those in the first tertile. A significant interaction between UPF consumption and the total

fat mass percentage was observed for both sexes in the Pelotas cohort (p-value < 0.0001). The relationship of the UPF consumption on IL-6 concentration seems to increase according to total fat mass percentage. In the EPITeen there was no significant interaction between the exposure and mediator for males (p-value 0.46) and females (p-value 0.13). The association between UPF and the total fat mass percentage was presented in Supplemental Table 7. Among males in the Brazilian cohort, the consumption of UPF increased total fat mass percentage. For females in Pelotas and EPITeen was not found a significant association.

Concerning mediation analysis, Table 4 shows that total fat mass percentage explained 2.7% (females from the EPITeen) and 35.5% (males from the Pelotas Cohort) of the total effect of UPF consumption on IL-6 concentration, although no statistical evidence of indirect effect was observed. The direct effect was greater than the indirect effect and it was significant only among females from the Portuguese cohort.

Discussion

This study included data from two prospective cohorts from Portugal and Brazil. The results showed that an increment in the energy contribution from UPF was associated with a higher IL-6 concentration among females in the Portuguese cohort and males in the Brazilian cohort. Furthermore, the mediation role of fat mass percentage (the indirect effect) was not significant.

The relationship between diet and IL-6 concentrations was elucidated elsewhere. A meta-analysis of clinical trials indicated that adherence to the Mediterranean dietary pattern decreases mean IL-6 [-0.42 pg/ml (95% CI -0.73; -0.11)] (17). Participants from the British cohort who remained a high Alternative Healthy Eating Index (AHEI) score or improved it over 6-year exposure period had lower IL-6 concentration compared to those who remained with low scores, however, this concentration did not change among participants who had a

decrease in the AHEI score (43). This result suggests that the adverse effect of diet on IL-6 concentrations is detectable when the exposure is maintained over a long period (43). In this sense, even if the consumption of UPF increases between the period of the exposure and IL-6 measurement, as described elsewhere using data from the 1982 Pelotas Cohort at 30 years follow-up (44) a unique assessment of dietary intake seems to be adequate to longitudinal analysis. Concerning unhealthy dietary patterns, the opposite has been found. For instance, a positive relationship has been suggested between a Western dietary pattern and IL-6 concentrations (14–16).

A study investigated the cross-sectional association between UPF consumption and low-grade chronic inflammation measured by C-reactive protein (18). Among females, a positive association was observed, and it was ceased after adjusting for body mass index. For males, an inverse relationship was found in analyses crude and adjusted for age. However, it disappeared when adjusting for socio-demographic variables or when the BMI was included in the model (18). Although sex difference was observed between the cohorts, our findings were in the same direction. Some hypotheses may be postulated to explain this result. Several food products comprise the UPF group (1). Soft drinks/ sugar-sweetened beverages followed by yogurt, and sweet cookies/salty crackers were the UPF mostly consumed by the EPITeen participants. In the Pelotas Birth Cohort, sweet cookies, soft drinks, and chocolate domain the three first positions. Sweet cookies/salty crackers were more consumed by females compared to males in the Portuguese cohort, while in the Brazilian cohort this product contributed more to males than females diet. We highlight that our approach was not designed to focus on a specific food, but to evaluate overall exposure to UPF. Besides, genes, hormones, and environmental exposures modulate the sex differences on immune responses which might explain the distinct findings between the cohorts (45).

Also concerning the contrast between the two studies, it is established that socioeconomic characteristics influence UPF consumption. In high-income countries, the consumption of these products is inversely associated with the socioeconomic position (46–48), while the opposite has been found in middle-income countries (44,49,50). Our analyses did not find an association between exposure and parental education in the EPITeen. In the 1982 Pelotas Birth Cohort, UPF consumption was greater among participants belonging to categories with the highest education level and income, and females who self-reported white skin color (Supplemental Table 4). Additional analysis was carried out including income and education of the cohort member in the EPITeen model. Even with a reduction in the sample size, after adjusting for three socioeconomic variables, health behaviors characteristics, and energy intake from other food sources than UPF, females in the third (2.07 pg/mL; 95% CI 1.45; 2.96) and fourth (2.64 pg/mL; 95% CI 1.81; 3.85) UPF consumption quartiles presented higher mean IL-6 than those in the first (1.25 pg/mL; 95% CI 0.85; 1.83). Among males, the results remained without statistical significance.

Regarding mediation analysis, the role of adiposity may have been more powerful among Brazilian males than in Portuguese females because we observed a strong association between fat mass and IL-6 concentration among males from the 1982 Pelotas Birth Cohort, although our findings did not suggest a significant indirect effect through body fat mass. Moreover, the results indicated that the association between UPF consumption and serum IL-6 seems to be explained by a possible direct mechanism. A plausible hypothesis is based on the link between diet and oxidative stress (9,51). The negative impact of UPF consumption on dietary nutrient profile has been reported (52), including evaluations in Portuguese (6) and Brazilian (2,7) populations. The UPF are often characterized by high-energy-dense; high quantities of sugar, sodium, and saturated and trans fats; low dietary fiber, proteins, vitamins,

minerals (2–7), and bioactive compounds (53). The relationship between total energy intake and low-grade inflammation is known. Diet energy restriction may decrease low-grade inflammation, although there are gaps in the literature about the mechanisms (9). As total energy intake was corrected using the percentage energy contribution from UPF in our approach (18), we consider it improbable that total energy intake has interfered in the findings. Another assumption is based on a recent positive association found between UPF consumption and urinary metabolites phthalate (54) substances commonly present in food packaging. These food contaminants may increase the serum concentrations of inflammation and oxidative stress markers (55,56). Similarly, unprocessed or minimally processed foods consumption was inversely related to urinary phthalate metabolites (54), and these foods have antioxidants that may prevent the syntheses of reactive molecules (9). Furthermore, alterations promoted by UPF in the gut microbiome inducing inflammation (8) could be postulated as a possible indirect mechanism that was not investigated in the current study.

Strengths and limitations of this study

The main strengths of this study relate to its prospective design, along with an evaluation of data from two settings with distinct socioeconomic status, and results in the same direction, although a difference between males and females was found. The predominant body of evidence about UPF and health outcomes has defined the exposure as the percentage of energy from UPF, the same approach performed in this research. We also presented results to UPF in grams and calories (Supplemental 5) to allow future comparisons in the literature. As it is not clear to define whether breads are UPF or not (1), a sensitivity analysis was conducted for this specific group. Moreover, the fat mass percentage was estimated using an accurate method of body composition assessment (37).

Nevertheless, several potential limitations must be considered. Regarding the assessment of dietary intake, the FFQs used in both cohorts were not developed to apply the NOVA classification, and FFQ is less accurate than other methods for the collection of information on food processing (57). Therefore, non-differential classification error cannot be ruled out, this error type led to an underestimate of the magnitude of the associations found (58). We highlight that the classification of food items has been conducted by two nutritionists of both countries involved and reviewed by an expert in nutritional epidemiology. The approach to evaluating UPF consumption as a percentage of total energy intake may reduce the problem of energy intake estimation due to dietary assessment by FFQ (59). Moreover, in the current research, the energy contribution of the UPF accounts for a maximum of 25.0%, similar to the results found in researches of representative samples of Portuguese (6) and Brazilian (60) populations that evaluated dietary intake by 24-hour recalls. As the number of food items in the FFQs of the EPITeen and Pelotas cohorts was different, to improve the comparability between the studies, we ran analyses adjusted to energy from other NOVA groups (61).

Concerning the outcome data, the lack of repeat data on IL-6 concentration suggests caution when interpreting the character longitudinal of our analyses, and whether the IL-6 serum indeed reflected chronic low-grade inflammation. Thus, to mitigate the last limitation mentioned participants with IL-6 > 10pg/mL were excluded because they could be cases of acute inflammation. Attrition analyses comparing non-included and included cohort members showed that the 524 participants of the EPITeen analyzed were slightly more likely to be female and there was an underrepresentation of the lowest parental education categories. Among the 2888 members included in the Pelotas cohort, females belonging to families in the second tertile of the family income at birth, participants born to mothers aged

≥ 30 and with 5-8 complete years of education, and those born with birth weight ≥ 2500 grams were overrepresented. A similar distribution was observed to smoking during the pregnancy. These analyses suggest that any attrition bias is likely to be small and towards the null hypothesis. Due to the multiple factors that can affect the measured associations, residual confounding cannot be ruled out. However, the analysis took into account major possible confounders, minimizing the possible bias. Finally, this is a single prospective observational study. Then, causation could not be established.

Conclusions

In conclusion, this study observed an association between UPF consumption and IL-6 serum concentration. The mediation analysis did not find a significant effect for adiposity. Our results support a possible link between UPF consumption and chronic low-grade inflammation. The findings need to be confirmed in large prospective cohorts in other settings, mainly aiming to understand the sex differences and using at least two inflammatory biomarkers measurements. In this sense, recommendations for avoiding the UPF intake and promoting unprocessed or minimally processed foods in the populations' diet may contribute to mitigate the chronic low-grade inflammation, and hence cardio-metabolic disorders.

Acknowledgments

The authors gratefully acknowledge the participants enrolled in the EPITeen cohort and their families as well as the participants from the 1982 Pelotas Birth cohort for their kindness and availability, and to all the members of the research team and its coordinators.

The authors' responsibilities were as follows: F.S.S., I.O.O., G.C.M., C.L., and D.P.G. designed the research; F.S.S. performed the data analysis and wrote the first draft of the paper; E.R. and C.L. coordinated and supervised data collection of the EPITeen cohort;

B.L.H., F.C.B., and D.P.G. coordinated and supervised data collection of the 1982 Pelotas Birth cohort. All authors critically reviewed and approved the final manuscript.

References

1. Monteiro CA, Cannon G, Levy RB, Moubarac JC, Louzada MLC, Rauber F, et al. Ultra-processed foods: What they are and how to identify them. *Public Health Nutr.* 2019;22(5):936–41.
2. Louzada ML da C, Martins APB, Canella DS, Baraldi LG, Levy RB, Claro RM, et al. Impact of ultra-processed foods on micronutrient content in the Brazilian diet. *Rev Saude Publica.* 2015;49:45.
3. Da Costa Louzada ML, Ricardo CZ, Steele EM, Levy RB, Cannon G, Monteiro CA. The share of ultra-processed foods determines the overall nutritional quality of diets in Brazil. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):94–102.
4. Martínez Steele E, Raubenheimer D, Simpson SJ, Baraldi LG, Monteiro CA. Ultra-processed foods, protein leverage and energy intake in the USA. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):114–24.
5. Moubarac JC, Batal M, Louzada ML, Martinez Steele E, Monteiro CA. Consumption of ultra-processed foods predicts diet quality in Canada. *Appetite.* 2017;108:512–20.
6. De Miranda RC, Rauber F, De Moraes MM, Afonso C, Santos C, Rodrigues S, et al. Consumption of ultra-processed foods and non-communicable diseases-related nutrient profile in Portuguese adults and elderly (2015-2016): The Upper project. *Br J Nutr.* 2020;
7. Louzada ML da C, Martins APB, Canella DS, Baraldi LG, Levy RB, Claro RM, et al. Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. *Rev Saude Publica.*

- 2015;49:1–11.
8. Zinöcker MK, Lindseth IA. The western diet–microbiome–host interaction and its role in metabolic disease. *Nutrients*. 2018;10(3):1–15.
 9. Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, Buetler T, Clement K, Cunningham K, et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *Br J Nutr*. 2011 Dec;106 Suppl:S5-78.
 10. Calder PC, Ahluwalia N, Albers R, Bosco N, Bourdet-Sicard R, Haller D, et al. A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *Br J Nutr*. 2013 Jan;109 Suppl:S1-34.
 11. Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, Gregson J, Willeit P, Gorman DN, et al. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: A collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet*. 2012;379(9822):1205–13.
 12. Swerdlow DI, Holmes M V., Kuchenbaecker KB, Engmann JEL, Shah T, Sofat R, et al. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: A mendelian randomisation analysis. *Lancet*. 2012;379(9822):1214–24.
 13. World Health Organization. HEARTS Technical package for cardiovascular disease management in primary health care: healthy-lifestyle counselling. World Health Organization, editor. Geneva; 2018. 9–16 p.
 14. Barbaresko J, Koch M, Schulze MB, Nöthlings U. Dietary pattern analysis and biomarkers of low-grade inflammation: A systematic literature review. *Nutr Rev*. 2013;71(8):511–27.
 15. Defago MD, Elorriaga N, Irazola VE, Rubinstein AL. Influence of food patterns on endothelial biomarkers: a systematic review. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2014 Dec;16(12):907–13.

16. Smidowicz A, Regula J. Effect of nutritional status and dietary patterns on human serum C-reactive protein and interleukin-6 concentrations. *Adv Nutr.* 2015 Nov;6(6):738–47.
17. Schwingshackl L, Hoffmann G. Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: A systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014;24(9):929–39.
18. Lopes AE da SC, Araújo LF, Levy RB, Barreto SM, Giatti L. Association between consumption of ultra-processed foods and serum c-reactive protein levels: Cross-sectional results from the ELSA-Brasil study. *Sao Paulo Med J.* 2019;137(2):169–76.
19. Hall KD, Ayuketah A, Brychta R, Cai H, Cassimatis T, Chen KY, et al. Ultra-Processed Diets Cause Excess Calorie Intake and Weight Gain: An Inpatient Randomized Controlled Trial of Ad Libitum Food Intake. *Cell Metab.* 2019;30(1):67-77.e3.
20. Mendonca R de D, Pimenta AM, Gea A, de la Fuente-Arrillaga C, Martinez-Gonzalez MA, Lopes ACS, et al. Ultraprocessed food consumption and risk of overweight and obesity: the University of Navarra Follow-Up (SUN) cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2016 Nov;104(5):1433–40.
21. Beslay M, Srouf B, Méjean C, Allès B, Fiolet T, Debras C, et al. Ultra-processed food intake in association with BMI change and risk of overweight and obesity: A prospective analysis of the French NutriNet-Santé cohort. *PLoS Med.* 2020;17(8):1–19.
22. Menezes AMB, Oliveira PD, Wehrmeister FC, Gonçalves H, Assunção MCF, Tovo-Rodrigues L, et al. Association between interleukin-6, C-reactive protein and adiponectin with adiposity: Findings from the 1993 pelotas (Brazil) birth cohort at 18

- and 22 years. *Cytokine*. 2018;110:44–51.
23. Vella CA, Allison MA. Associations of abdominal intermuscular adipose tissue and inflammation: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Obes Res Clin Pr*. 2019;12(6):534–40.
 24. Brion MJA, Lawlor DA, Matijasevich A, Horta B, Anselmi L, Araújo CL, et al. What are the causal effects of breastfeeding on IQ, obesity and blood pressure? Evidence from comparing high-income with middle-income cohorts. *Int J Epidemiol*. 2011;40(3):670–80.
 25. Ramos E, Barros H. Family and school determinants of overweight in 13-year-old Portuguese adolescents. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2007;96(2):281–6.
 26. Hornung RW, Laurence D. Reed. Estimation of average concentration in the presence of Nondetectable values. *Appl Occup Env Hyg*. 1990;5:46–51.
 27. Barros FC, Victora CG, Horta BL, Gigante DP. Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004-5, Pelotas, RS. *Rev Saude Publica*. 2008;42(suppl 2):7–15.
 28. Horta BL, Gigante DP, Gonçalves H, Dos Santos Motta JV, Loret De Mola C, Oliveira IO, et al. Cohort Profile Update: The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol*. 2015;44(2):441-441e.
 29. Victora CG, Barros FC. Cohort Profile : The 1982 Pelotas (Brazil) Birth Cohort Study. *Int J Epidemiol*. 2006;35:237–42.
 30. Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, Rosner B, Bain C, Witschi J, et al. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am J Epidemiol*. 1985. 1;122(1):51–65.
 31. Lopes C, Aro A, Azevedo A, Ramos E, Barros H. Intake and Adipose Tissue

Composition of Fatty Acids and Risk of Myocardial Infarction in a Male Portuguese Community Sample. *J Am Diet Assoc.* 2007;107(2):276–86.

32. Lopes C. Reproducibility and validity of semiquantitative food frequency questionnaire. In: *Diet and myocardial infarction: a community-based case-control study [PhD Thesis]*. University of Porto; 2000.
33. Sichieri R, Everhart JE. Validity of a Brazilian food frequency questionnaire against dietary recalls and estimated energy intake. 1998;18(10):1649–59.
34. Bielemann RM, Santos Motta J V., Minten GC, Horta BL, Gigante DP. Consumption of ultra-processed foods and their impact on the diet of young adults. *Rev Saude Publica.* 2015;49.
35. Monteiro CA, Cannon G, Moubarac JC, Levy RB, Louzada MLC, Jaime PC. The un Decade of Nutrition, the NOVA food classification and the trouble with ultra-processing. *Public Health Nutr.* 2018;21(1):5–17.
36. Monteiro CA, Cannon G, Levy R, Moubarac J-C, Jaime P, Martins AP et al. The Food System. Food Classification. Public Health. NOVA. The star shines bright. *World Nutr.* 2016;7(1):28–38.
37. Bazzocchi A, Ponti F, Albisinni U, Battista G, Guglielmi G. DXA: Technical aspects and application. *Eur J Radiol.* 2016;85(8):1481–92.
38. Magalhães A, Severo M, Autran R, Araújo J, Santos P, Pina MF, et al. Validation of a Single Question for the Evaluation of Physical Activity in Adolescents. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2017 Aug;27(4):361–9.
39. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-Country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35(8):1381–95.

40. Daniel RM, de Stavola BL, Cousens SN. Gformula: Estimating causal effects in the presence of time-varying confounding or mediation using the g-computation formula. *Stata J.* 2011;11(4):479–517.
41. De Stavola BL, Daniel RM, Ploubidis GB, Micali N. Mediation analysis with intermediate confounding: Structural equation modeling viewed through the causal inference lens. *Am J Epidemiol.* 2015;181(1):64–80.
42. Dossus L, Becker S, Achaintre D, Kaaks R, Rinaldi S. Validity of multiplex-based assays for cytokine measurements in serum and plasma from “non-diseased” subjects: Comparison with ELISA. *J Immunol Methods.* 2009;350(1–2):125–32.
43. Akbaraly TN, Shipley MJ, Ferrie JE, Virtanen M, Lowe G, Hamer M, et al. Long-term adherence to healthy dietary guidelines and chronic inflammation in the prospective Whitehall II study. *Am J Med.* 2015;128(2):152-160.e4.
44. Dos Santos Costa C, Formoso Assunção MC, Dos Santos Vaz J, Rauber F, Oliveira Bierhals I, Matijasevich A, et al. Consumption of ultra-processed foods at 11, 22 and 30 years at the 2004, 1993 and 1982 Pelotas Birth Cohorts. *Public Health Nutr.* 2020;
45. Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2016;16(10):626–38.
46. Schnabel L, Kesse-Guyot E, Allès B, Touvier M, Srouf B, Hercberg S, et al. Association between Ultraprocessed Food Consumption and Risk of Mortality among Middle-aged Adults in France. *JAMA Intern Med.* 2019;179(4):490–8.
47. Baraldi LG, Martinez Steele E, Canella DS, Monteiro CA. Consumption of ultra-processed foods and associated sociodemographic factors in the USA between 2007 and 2012: Evidence from a nationally representative cross-sectional study. *BMJ Open.* 2018;8(3).

48. Djupegot IL, Nenseth CB, Bere E, Bjørnara HBT, Helland SH, Øverby NC, et al. The association between time scarcity, sociodemographic correlates and consumption of ultra-processed foods among parents in Norway: A cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2017;17(1):1–8.
49. Simões B dos S, Cardoso L de O, Benseñor IJM, Schmidt MI, Duncan BB, Luft VC, et al. Consumption of ultra-processed foods and socioeconomic position: a cross-sectional analysis of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health. *Cad Saude Publica*. 2018;34(3):1–13.
50. Khandpur N, Cediel G, Obando DA, Jaime PC, Parra DC. Sociodemographic factors associated with the consumption of ultra-processed foods in Colombia. *Rev Saude Publica*. 2020;54:1–12.
51. Ahluwalia N, Andreeva VA, Kesse-Guyot E, Hercberg S. Dietary patterns, inflammation and the metabolic syndrome. *Diabetes Metab*. 2013;39(2):99–110.
52. FAO. Ultra-processed foods, diet quality, and health using the NOVA classification system. Prepared by Carlos Augusto Monteiro, Geoffrey Cannon, Mark Lawrence, Maria Laura da Costa Louzada, and Priscila Pereira Machado. 2019. 48 p.
53. Steele EM, Monteiro CA. Association between dietary share of ultra-processed foods and urinary concentrations of phytoestrogens in the US. *Nutrients*. 2017;9(3).
54. Buckley JP, Kim H, Wong E, Rebholz CM. Ultra-processed food consumption and exposure to phthalates and bisphenols in the US National Health and Nutrition Examination Survey, 2013–2014. *Environ Int*. 2019;131(May):105057.
55. Ferguson KK, Loch-Carusio R, Meeker JD. Urinary phthalate metabolites in relation to biomarkers of inflammation and oxidative stress: NHANES 1999-2006. *Environ Res*. 2011;111(5):718–26.

56. Ferguson KK, Cantonwine DE, Rivera-González LO, Loch-Caruso R, Mukherjee B, Anzalota Del Toro L V., et al. Urinary phthalate metabolite associations with biomarkers of inflammation and oxidative stress across pregnancy in Puerto Rico. *Environ Sci Technol*. 2014;48(12):7018–25.
57. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Guidelines on the collection of information on food processing through food consumption surveys. Rome. 2015.
58. Willett W. An overview of issues related to the correction of non-differential exposure measurement error in epidemiologic studies. *Stat Med*. 1989;8(9):1031–40.
59. Canhada SL, Luft VC, Giatti L, Duncan BB, Chor D, Fonseca MDJMD, et al. Ultra-processed foods, incident overweight and obesity, and longitudinal changes in weight and waist circumference: The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *Public Health Nutr*. 2020;23(6):1076–86.
60. IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia. Pesquisa de Orçamentos Familiar. Vol. 46, Rio de Janeiro. 2020. 983–987 p.
61. Costa C dos S, Assunção MCF, Loret de Mola C, Cardoso J de S, Matijasevich A, Barros AJD, et al. Role of ultra-processed food in fat mass index between 6 and 11 years of age: a cohort study. *Int J Epidemiol*. 2020;1–10.

Table 1. Characteristics of participants, stratified by sex in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts¹.

	Male	Female
EPITeen	n = 236	n = 288
<i>Socioeconomic characteristic at 21 years</i>		
Parental education, n (%)		
Low	75 (31.8)	104 (36.1)
Intermediate	66 (28.0)	81 (28.1)
High	95 (40.2)	103 (35.8)
<i>Health-related behaviors at 21 years</i>		
Current Smoker, n (%)		
No	145 (61.4)	199 (69.3)
Yes	91 (38.6)	88 (30.7)
Leisure physical activity, n (%)		
Low	85 (36.0)	103 (35.8)
Moderate	101 (42.8)	133 (46.1)
High	50 (21.2)	52 (18.1)
<i>Measurements at 27 years</i>		
Fat mass (%), mean \pm SD	28.58 \pm 6.93	39.05 \pm 5.80
Interleukin-6 (pg/mL), median (IQR)	2.59 (1.40; 4.10)	2.72 (1.60; 4.43)
Interleukin-6 (log pg/mL), mean \pm SD	0.63 \pm 1.28	0.65 \pm 1.36
Pelotas	n = 1402	n = 1486
<i>Socioeconomic characteristics at perinatal and 23 years</i>		
Skin color, n (%)		
White	1047 (74.6)	1107 (74.5)
Black	221 (15.8)	250 (16.8)
Brown/Indigenous/Asian	134 (9.6)	129 (8.7)
Monthly income, n (%)		
1 st (poorer)	415 (29.6)	543 (36.5)
2 nd	486 (34.7)	499 (33.6)
3 rd (richer)	501 (35.7)	444 (29.9)
Education, n (%)		
Low	538 (38.4)	443 (29.8)
Intermediate	695 (49.5)	777 (52.3)
High	169 (12.1)	266 (17.9)
<i>Health-related behaviors at 23 years</i>		
Current Smoker, n (%)		
No	1042 (74.3)	1150 (77.4)
Yes	360 (25.7)	336 (22.6)
Leisure physical activity, n (%)		
Low	393 (28.1)	959 (64.5)
Intermediate	372 (26.5)	296 (19.9)
High	637 (45.4)	231 (15.6)
<i>Measurements at 30 years</i>		
Fat mass (%), mean \pm SD	24.34 \pm 8.82	39.10 \pm 8.52
Interleukin-6 (pg/mL), median (IQR)	1.36 (0.98; 2.06)	1.44 (0.97; 2.27)
Interleukin-6 (log pg/mL), mean \pm SD	0.39 \pm 0.59	0.42 \pm 0.61

¹Values are n (%), mean \pm SD, or median IQR.

n might not sum to 524 or 2988 because of missing data.

Table 2. Daily consumption (in grams, energy, and % energy), according to the food processing level, by sex in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts.

Variables	EPITeen		Pelotas	
	Males	Females	Males	Females
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)
Grams				
Unprocessed or minimally processed foods	1343.6 (1002.3; 1715.7)	1284.3 (1033.2; 1648.1)	2066.0 (1542.8; 2878.8)	1751.7 (1349.6; 2315.9)
Processed culinary ingredients	18.0 (9.5; 26.7)	15.6 (9.0; 26.1)	48.0 (27.4; 80.0)	48.0 (16.0; 96.0)
Processed foods	231.1 (155.4; 373.4)	135.0 (95.8; 200.1)	301.2 (163.7; 520.0)	161.4 (82.9; 257.7)
Ultra-processed foods	441.7 (308.5; 651.7)	354.1 (234.3; 515.6)	447.3 (265.0; 690.0)	321.6 (182.1; 526.2)
Energy (kcal)				
Unprocessed or minimally processed foods	1125.0 (969.8; 1428.3)	1002.0 (846.1; 1187.9)	2104.7 (1533.0; 2881.5)	1641.5 (1216.4; 2270.5)
Processed culinary ingredients	111.2 (60.0; 157.8)	106.5 (59.5; 168.1)	192.0 (109.7; 320.0)	192.0 (64.0; 384.0)
Processed foods	412.5 (297.7; 571.9)	307.3 (219.9; 441.1)	482.5 (300.7; 773.1)	314.3 (164.6; 590.5)
Ultra-processed foods	586.3 (422.8; 798.0)	474.7 (355.7; 641.8)	702.0 (424.4; 1107.1)	583.4 (384.3; 904.2)
% Energy (% kcal)				
Unprocessed or minimally processed foods	50.7 (43.3; 57.5)	51.5 (46.0; 58.2)	58.7 (50.0; 66.5)	58.5 (49.6; 67.1)
Processed culinary ingredients	4.5 (2.6; 6.5)	5.5 (3.1; 7.9)	5.1 (2.4; 8.6)	5.6 (2.0; 10.5)
Processed foods	17.8 (14.2; 22.6)	15.8 (11.7; 20.8)	13.4 (8.4; 19.6)	11.0 (6.2; 17.6)
Ultra-processed foods	25.0 (19.1; 32.5)	24.2 (19.4; 30.5)	19.2 (12.7; 26.8)	20.5 (13.5; 28.6)

Interquartile range, IQR. Other sources are the sum of the three other food processing groups – unprocessed or minimally processed foods, processed culinary ingredients, and processed foods.

Table 3. Unadjusted and adjusted linear regressions between consumption of ultra-processed foods (% of total energy) and IL-6, by sex in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts. Regressions performed with IL-6 on logarithmic scale – results presented in exponential means.

Interleukin-6 (pg/mL)										
Quartile of consumption of UPF	EPITeen					Pelotas				
	1st ¹	2nd	3rd	4th	p-value ²	1st ¹	2nd	3rd	4th	p-value ²
	mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)		mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)	
Males										
Crude	2.21 (1.60; 3.06)	1.63 (1.16; 2.30)	1.85 (1.33; 2.58)	1.83 (1.33; 2.51)	0.53	1.43 (1.35; 1.52)	1.43 (1.34; 1.52)	1.49 (1.40; 1.58)	1.56 (1.46; 1.67)	0.03
Model 1	2.22 (1.61; 3.07)	1.68 (1.19; 2.37)	1.80 (1.30; 2.51)	1.82 (1.32; 2.50)	0.46	1.40 (1.31; 1.48)	1.42 (1.34; 1.51)	1.50 (1.41; 1.60)	1.60 (1.50; 1.71)	<0.01
Model 2	2.18 (1.57; 3.02)	1.66 (1.18; 2.34)	1.80 (1.29; 2.50)	1.88 (1.36; 2.61)	0.62	1.40 (1.32; 1.49)	1.42 (1.34; 1.51)	1.50 (1.41; 1.59)	1.59 (1.49; 1.70)	<0.01
Females										
Crude	1.35 (0.99; 1.86)	1.78 (1.31; 2.41)	2.20 (1.61; 3.01)	2.51 (1.82; 3.47)	<0.01	1.65 (1.55; 1.76)	1.52 (1.43; 1.62)	1.46 (1.37; 1.55)	1.50 (1.41; 1.59)	0.03
Model 1	1.36 (0.98; 1.88)	1.77 (1.30; 2.40)	2.18 (1.59; 2.99)	2.54 (1.83; 3.54)	<0.01	1.59 (1.49; 1.70)	1.51 (1.42; 1.61)	1.47 (1.39; 1.57)	1.53 (1.44; 1.62)	0.37
Model 2	1.31 (0.95; 1.82)	1.76 (1.29; 2.39)	2.20 (1.60; 3.01)	2.64 (1.89; 3.69)	<0.01	1.60 (1.49; 1.71)	1.52 (1.42; 1.61)	1.47 (1.39; 1.57)	1.52 (1.43; 1.62)	0.31

¹Reference category.

²p values for linear trend

Model 1: adjusted for socioeconomic and health-related behaviors characteristics (EPITeen: parental education, smoking status, and leisure physical activity; Pelotas: skin color, monthly income, education, smoking status, and leisure physical activity)

Model 2: adjusted as in model 1 plus energy intake from other food sources than ultra-processed.

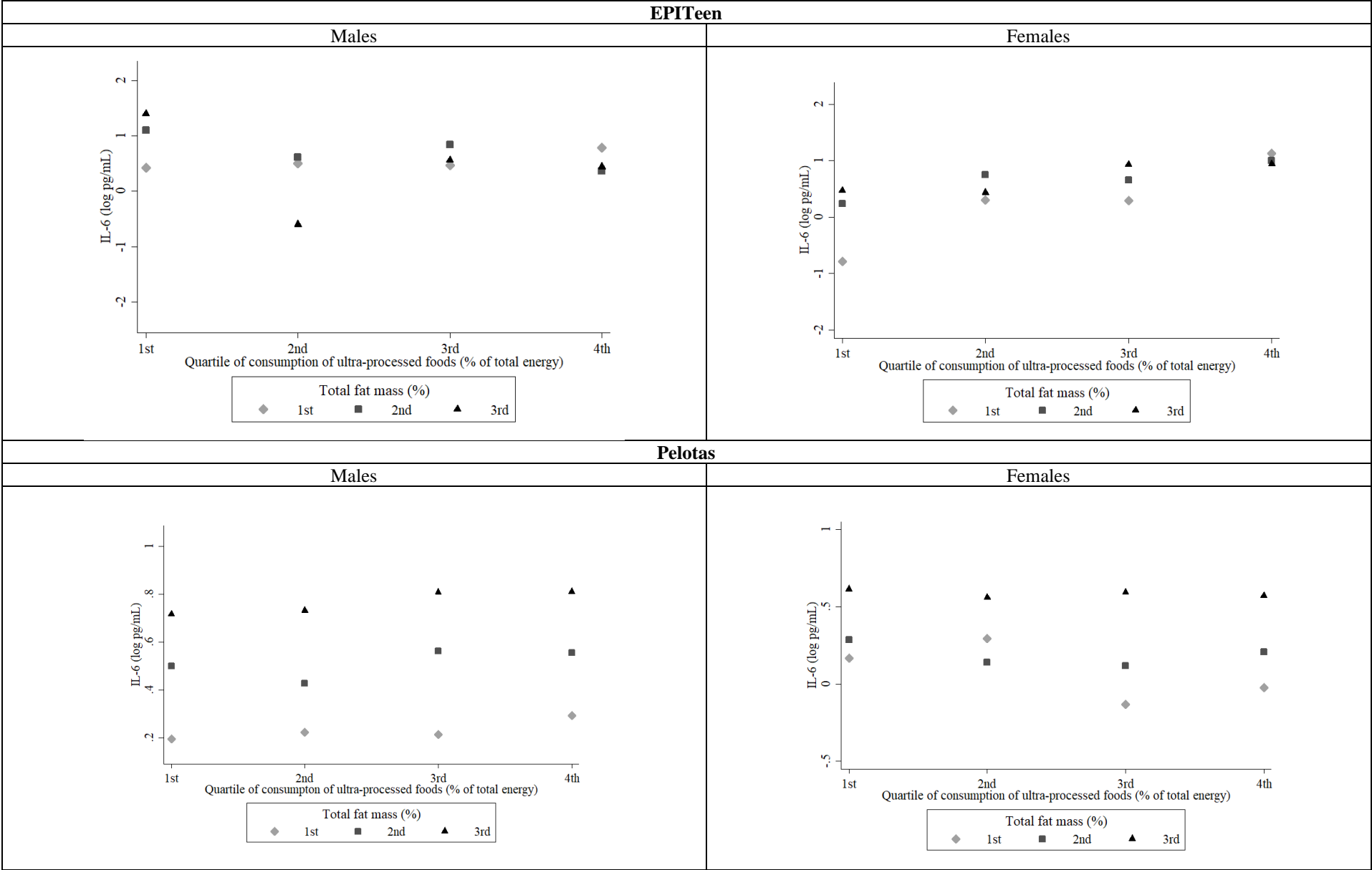


Figure 1. Adjusted means of log IL-6 according to the consumption of ultra-processed foods and total fat mass percentage. Estimates are adjusted for socioeconomic and health-related behaviors characteristics (EPITeen: parental education, smoking status, leisure physical activity, and energy intake from other food sources than ultra-processed; Pelotas: skin color, monthly income, education, smoking status, leisure physical activity, and energy intake from other food sources than ultra-processed).

Table 4. Estimated direct and indirect effects of ultra-processed food consumption (% of total energy) on interleukin-6 mediated through total fat mass percentage in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts.

	Total effect (95% CI)	Natural direct effect (95% CI)	Natural indirect effect (95% CI)¹
EPITeen			
Males	-0.037 (-0.186; 0.111)	-0.017 (-0.177; 0.142)	-0.020 (-0.058; 0.018)
Females	0.232 (0.083; 0.380)²	0.225 (0.076; 0.374)²	0.006 (-0.012; 0.024)
Pelotas			
Males	0.040 (0.010; 0.069)²	0.026 (-0.006; 0.057)	0.014 (-0.002; 0.031)
Females	-0.016 (-0.046; 0.014)	-0.019 (-0.052; 0.013)	0.003 (-0.020; 0.026)

¹Mediated by total fat mass percentage.

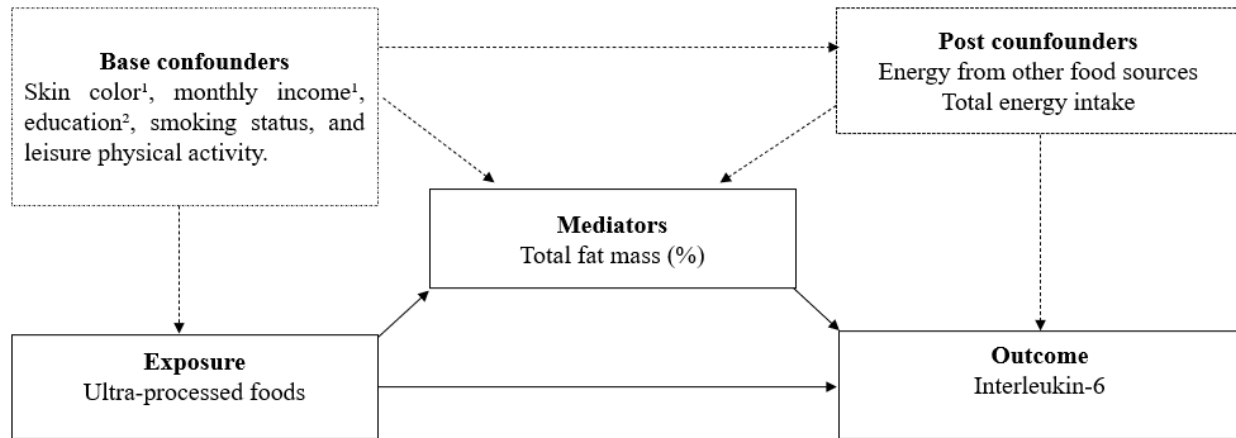
²p-value <0.05

Supplementary data

Supplemental Table 1. Foods contained in the Food Frequency Questionnaire (FFQ) of the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts, according to the NOVA classification.

EPITeen	Pelotas
Group 1. Unprocessed or minimally processed foods	
Milk; eggs; meats (steak, chicken, turkey, rabbit, pork, lamb, viscera, fish, and seafood); rice; spaghetti; fried potato; potatoes; cabbages; broccoli; cauliflower; brussels sprout; spinach; green beans; lettuce; onion; carrot; turnip; tomato; bell pepper; cucumber; beans, chickpeas; pea, fava beans; apple, pear; orange, tangerine; banana; kiwi; strawberry; cherry; peach, plum; watermelon or melon; persimmon; fig, loquats, apricots; grape; nuts; coffee; tea; pudding, candies; and vegetables soup.	Rice; bean; spaghetti; manioc flour; home bread; cake; polenta; fried potato; boiled potatoes; cassava; popcorn; lentil, pea, chickpeas; lettuce; collard greens; cabbage; orange, tangerine; banana; papaya; apple; watermelon, melon; pineapple; avocado; mango; strawberry; grape; peach; guava; pear; tomato; chayote; pumpkin; natural cucumber; green beans; carrot; beet; cauliflower; milk, eggs; meats (steak, pork, chicken, fish, and shrimp); snacks (kibe, filled pastry, empanada); pudding, candies; coffee; orange juice; lemonade; and fruit juice or fruit pulp juice.
Group 2. Processed culinary ingredients	
Olive oil; vegetable oils; butter; and sugar.	Sugar.
Group 3. Processed foods	
Cheese; canned fish; white bread or toasts; whole-grain bread or toasts; marmalade, compote, jelly, honey; canned fruits; snacks (croissants, pastries, donut or cakes, croquettes, cod dumplings, etc.); olive; wine, and beer.	Whole grain bread; white bread; cheese; beer; and wine.
Group 4. Ultra-processed foods	
Yogurt; ice cream; processed meats (ham, chorizo, sausage, bacon, etc.); margarine; breakfast ‘cereals’; sweet cookies, salty cracker; chocolate powder, chocolate bar; soft drinks, sugar-sweetened beverages; mayonnaise; ‘instant’ sauces; pizza; hamburger; packaged fried potato; and distilled drinks.	Sweet cookies; salty cracker; yogurt; Bauru or cheeseburger; ground meat (hamburger); processed meats (sausage, salami); hot dog; pizza; mayonnaise; ice cream; candies; chocolate powder; chocolate bar or bonbon; and soft drinks.

Supplementary data



Supplemental Figure 1. Direct acyclic graph of the effect of ultra-processed-foods consumption on interleukin-6 in the EPITeen and 1982 Pelotas cohort.

¹variable included only in model to Pelotas; and ²parental education in the EPITeen cohort.

Supplementary data

Supplemental Table 2. Quartile of consumption of ultra-processed foods (% of total energy) in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts.

	1st ^a			2nd			3rd			4th		
	n	median	IQR	n	median	IQR	n	median	IQR	n	median	IQR
EPITeen												
Males	61	16.0	(13.7; 17.7)	54	22.1	(20.9; 23.3)	58	27.7	(26.1; 29.5)	63	36.8	(34.5; 43.0)
Females	70	15.8	(13.4; 17.5)	77	21.7	(20.7; 23.2)	73	27.3	(26.4; 28.7)	68	35.7	(33.7; 40.0)
Pelotas												
Males	377	9.2	(6.6; 11.4)	362	16.8	(15.1; 18.4)	351	23.4	(21.6; 25.4)	312	33.8	(29.8; 39.6)
Females	345	8.7	(5.8; 11.1)	360	16.1	(14.5; 17.9)	371	23.2	(21.5; 25.3)	410	34.1	(30.4; 39.2)

Supplementary data

Supplemental Table 3. Median interleukin-6 concentration and interquartile range (IQR) according to independent variables in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts, stratified by sex.

	Interleukin-6 (pg/mL)			
	Males		Females	
	Median (IQR)	p-value	Median (IQR)	p-value
EPITeen				
<i>Socioeconomic characteristics at 21 years</i>				
Parental education, n (%)		0.13		0.34
Low	2.85 (1.73; 4.47)		2.85 (1.57; 4.55)	
Intermediate	2.30 (1.23; 3.46)		2.84 (1.92; 4.70)	
High	2.57 (1.24; 4.13)		2.41 (1.47; 3.90)	
<i>Health-related behaviors at 21 years</i>				
Current Smoker, n (%)				
No		0.02		0.36
Yes	2.86 (1.59; 4.40)		2.92 (1.78; 4.48)	
Leisure physical activity, n (%)	2.32 (1.19; 3.55)		2.54 (1.42; 4.21)	
Low		0.94		0.23
Moderate	2.65 (1.41; 4.16)		2.52 (1.35; 3.79)	
High	2.52 (1.54; 3.84)		2.98 (1.90; 4.84)	
Pelotas				
<i>Socioeconomic characteristics at perinatal and 23 years</i>				
Skin color, n (%)		0.03		0.007
White	1.37 (0.98; 2.06)		1.38 (0.94; 2.21)	
Black	1.27 (0.88; 2.04)		1.66 (1.07; 2.55)	
Brown/Indigenous/Asian	1.54 (1.12; 2.09)		1.66 (1.01; 2.40)	
Monthly income, n (%)		0.05		<0.001
1 st (poorer)	1.41 (1.04; 2.21)		1.59 (1.02; 2.36)	
2 nd	1.33 (0.98; 1.92)		1.42 (0.98; 2.32)	
3 rd (richer)	1.34 (0.93; 2.13)		1.30 (0.90; 2.04)	
Education, n (%)		<0.001		<0.001
Low	1.43 (1.04; 2.13)		1.67 (1.08; 2.44)	
Intermediate	1.34 (0.95; 2.13)		1.34 (0.96; 2.14)	
High	1.20 (0.91; 1.70)		1.37 (0.85; 2.16)	
<i>Health-related behaviors at 23 years</i>				
Current Smoker, n (%)		<0.01		0.11
No	1.33 (0.97; 1.99)		1.40 (0.95; 2.26)	
Yes	1.50 (1.02; 2.31)		1.57 (1.03; 2.30)	
Leisure physical activity, n (%)		0.81		0.66
Low	1.37 (0.99; 2.06)		1.44 (0.97; 2.22)	
Intermediate	1.37 (0.98; 2.02)		1.50 (0.96; 2.47)	
High	1.35 (0.98; 2.09)		1.36 (0.93; 2.27)	

Median (IQR): median and interquartile range.

The differences between median interleukin-6 concentrations according to variables were tested using the Wilcoxon or Kruskal-Wallis test.

Supplementary data

Supplemental Table 4. Characteristics of participants according to the consumption of ultra-processed foods in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts, stratified by sex.

	Males				p-value*	Females				p-value ¹
	1st ^a	2nd	3rd	4th		1st ^a	2nd	3rd	4th	
EPITeen										
<i>Socioeconomic characteristic at 21 years</i>										
Parental education, n (%)					0.39					0.29
Low	16 (21.3)	14 (18.7)	21 (28.0)	24 (32.0)		31 (29.8)	21 (20.2)	23 (22.1)	29 (27.9)	
Intermediate	15 (22.7)	17 (25.8)	14 (21.2)	20 (30.3)		19 (23.4)	23 (28.4)	23 (28.4)	16 (19.8)	
High	30 (31.6)	23 (24.2)	23 (24.2)	19 (20.0)		20 (19.5)	33 (32.0)	27 (26.2)	23 (22.3)	
<i>Health-related behaviors at 21 years</i>										
Current Smoker, n (%)					0.71					0.87
No	39 (26.9)	30 (20.7)	38 (26.2)	38 (26.2)		47 (23.6)	56 (28.1)	51 (25.6)	45 (22.7)	
Yes	22 (24.2)	24 (26.4)	20 (22.0)	25 (27.4)		23 (26.1)	21 (23.9)	22 (25.0)	22 (25.0)	
Leisure physical activity, n (%)					0.62					0.31
Low	20 (23.5)	21 (24.7)	21 (24.7)	23 (27.1)		27 (26.2)	23 (22.4)	26 (25.2)	27 (26.2)	
Moderate	24 (23.8)	26 (25.7)	23 (22.8)	28 (27.7)		28 (21.1)	40 (30.0)	39 (29.3)	26 (19.6)	
High	17 (34.0)	07 (14.0)	14 (28.0)	12 (24.0)		15 (28.8)	14 (26.9)	08 (15.4)	15 (28.9)	
Pelotas										
<i>Socioeconomic at 23 years</i>										
Skin color, n (%)					0.18					0.003
White	267 (25.5)	266 (25.4)	269 (25.7)	245 (23.4)		234 (21.2)	258 (23.3)	288 (26.0)	327 (29.5)	
Black	64 (28.9)	57 (25.8)	55 (24.9)	45 (20.4)		72 (28.8)	64 (25.6)	61 (24.4)	53 (21.2)	
Brown/Indigenous/Asian	46 (34.3)	39 (29.1)	27 (20.2)	22 (16.4)		39 (30.1)	38 (29.5)	22 (17.1)	30 (23.3)	
Monthly income, n (%)					<0.001					<0.001
1 st (poorer)	174 (41.9)	99 (23.9)	86 (20.7)	56 (13.5)		186 (34.2)	135 (24.9)	108 (19.9)	114 (21.0)	
2 nd	127 (26.1)	134 (27.6)	123 (25.3)	102 (21.0)		105 (21.0)	125 (25.1)	133 (26.7)	136 (27.2)	
3 rd (richer)	76 (15.2)	129 (25.8)	142 (28.3)	154 (30.7)		54 (12.2)	100 (22.5)	130 (29.3)	160 (36.0)	
Education, n (%)					<0.001					<0.001
Low	191 (35.5)	134 (24.9)	125 (23.2)	88 (16.4)		183 (41.3)	105 (23.7)	80 (18.1)	75 (16.9)	
Intermediate	167 (24.0)	192 (27.6)	175 (25.2)	161 (23.2)		141 (18.2)	189 (24.3)	209 (26.9)	238 (30.6)	
High	19 (11.2)	36 (21.3)	51 (30.2)	63 (37.3)		21 (7.9)	66 (24.8)	82 (30.8)	97 (36.5)	
<i>Health-related behaviors at 23 years</i>										
Current Smoker, n (%)					0.29					0.001
No	270 (25.9)	264 (25.3)	267 (25.6)	241 (23.2)		244 (21.2)	279 (24.3)	310 (27.0)	317 (27.5)	
Yes	107 (29.7)	98 (27.2)	84 (23.3)	71 (19.8)		101 (30.0)	81 (24.1)	61 (18.2)	93 (27.7)	
Leisure physical activity, n (%)					0.05					0.16
Low	120 (30.5)	103 (26.2)	93 (23.7)	77 (19.6)		240 (25.0)	231 (24.1)	231 (24.1)	257 (26.8)	
Intermediate	111 (29.8)	94 (25.3)	81 (21.8)	86 (23.1)		65 (22.0)	77 (26.0)	71 (24.0)	83 (28.0)	
High	146 (22.9)	165 (25.9)	177 (27.8)	149 (23.4)		40 (17.3)	52 (22.5)	69 (29.9)	70 (30.3)	

¹p-value chi-squared test.

Supplementary data

Supplemental Table 5. Unadjusted and adjusted linear regressions between consumption of ultra-processed foods (in grams, energy, and % of total energy) and log-transformed interleukin-6, by sex in the EPITeen and 1982 Pelotas.

	EPITeen				Pelotas			
	Males		Females		Males		Females	
	β (95% IC)	p-value	β (95% IC)	p-value	β (95% IC)	p-value	β (95% IC)	p-value
Ultra-processed food consumption								
Grams								
Crude	-0.016 (-0.057; 0.026)	0.46	0.038 (-0.016; 0.091)	0.17	0.009 (0.003; 0.016)	0.006	-0.003 (-0.010; 0.004)	0.44
Model 1	-0.013 (-0.054; 0.028)	0.54	0.044 (-0.014; 0.102)	0.14	0.010 (0.003; 0.017)	0.003	-0.002 (-0.009; 0.006)	0.67
Model 2	-0.013 (-0.055; 0.028)	0.52	0.043 (-0.015; 0.102)	0.15	0.011 (0.005; 0.018)	0.001	-0.001 (-0.008; 0.007)	0.82
Energy (kcal)								
Crude	0.006 (-0.045; 0.058)	0.81	0.080 (0.020; 0.140)	0.009	0.002 (-0.003; 0.007)	0.38	-0.004 (-0.010; 0.001)	0.13
Model 1	0.008 (-0.044; 0.059)	0.77	0.083 (0.022; 0.145)	0.01	0.003 (-0.002; 0.008)	0.25	-0.003 (-0.009; 0.002)	0.24
Model 2	0.003 (-0.050; 0.055)	0.92	0.086 (0.022; 0.149)	0.01	0.005 (-0.001; 0.010)	0.09	-0.003 (-0.009; 0.003)	0.34
% Energy (% kcal)								
Crude	-0.004 (-0.021; 0.013)	0.64	0.025 (0.007; 0.043)	0.007	0.003 (-0.0001; 0.006)	0.06	-0.002 (-0.005; 0.0003)	0.09
Model 1	-0.004 (-0.021; 0.013)	0.64	0.025 (0.007; 0.044)	0.006	0.004 (0.001; 0.007)	0.004	-0.001 (-0.004; 0.002)	0.67
Model 2	-0.001 (-0.020; 0.017)	0.87	0.029 (0.010; 0.048)	0.003	0.004 (0.001; 0.007)	0.009	-0.001 (-0.004; 0.002)	0.57

Grams and calories are on a scale of 100 for better interpretation.

Model 1: adjusted for socioeconomic and health-related behaviors characteristics (EPITeen: parental education, smoking status, and leisure physical activity; Pelotas: skin color, monthly income, education, smoking status, and leisure physical activity).

Model 2: adjusted as in model 1 plus energy intake from other food sources than ultra-processed.

Supplemental Table 6. Sensitivity analyses of the consumption of ultra-processed foods (% of total energy) and IL-6, by sex in the EPITeen and 1982 Pelotas cohorts.

Quartile of consumption of UPF	Interleukin-6 (pg/mL)									
	EPITeen					Pelotas				
	1st ¹	2nd	3rd	4th	p-value ²	1st ¹	2nd	3rd	4th	p-value ²
	mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)		mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)	mean (95% CI)	
Including breads in the UPF group										
Males	1.85 (1.33; 2.56)	1.87 (1.33; 2.62)	1.73 (1.21; 2.47)	2.04 (1.47; 2.82)	0.77	1.42 (1.33; 1.51)	1.41 (1.32; 1.49)	1.50 (1.41; 1.60)	1.57 (1.48; 1.67)	0.01
Females	1.29 (0.93; 1.80)	1.88 (1.38; 2.57)	1.86 (1.38; 2.52)	3.05 (2.15; 4.32)	<0.01	1.60 (1.50; 1.71)	1.51 (1.42; 1.61)	1.48 (1.40; 1.58)	1.51 (1.41; 1.61)	0.18

Regressions performed with IL-6 on logarithmic scale – results presented in exponential means.

¹Reference category

²p values for linear trend

Model adjusted for socioeconomic and health-related behaviors characteristics (EPITeen: parental education, smoking status, leisure physical activity, and energy intake from other food sources than ultra-processed; Pelotas: skin color, monthly income, education, smoking status, leisure physical activity, and energy intake from other food sources than ultra-processed).

Supplementary data

Supplemental Table 7. Unadjusted and adjusted linear regressions between consumption of ultra-processed foods and total fat mass (%) by sex in the EPITeen and Pelotas cohorts.

Quartile of consumption of UPF	Total fat mass (%)							
	EPITeen				Pelotas			
	2nd	3rd	4th		2nd	3rd	4th	
	β (95% CI)	β (95% CI)	β (95% CI)	p-value [†]	β (95% CI)	β (95% CI)	β (95% CI)	p-value [†]
Males								
Crude	-0.51 (-3.07; 2.05)	-1.58 (-4.11; 0.94)	-0.75 (-3.21; 1.71)	0.42	0.95 (-0.35; 2.25)	2.28 (0.98; 3.59)	3.10 (1.75; 4.46)	< 0.001
Model 1	-1.03 (-3.55; 1.50)	-1.93 (-4.40; 0.54)	-1.42 (-3.85; 1.02)	0.19	0.54 (-0.75; 1.82)	1.82 (0.53; 3.12)	2.40 (1.03; 3.77)	< 0.001
Model 2	-1.22 (-3.69; 1.24)	-2.28 (-4.70; 0.14)	-2.66 (-5.14; -0.19)	0.02	0.40 (-0.88; 1.68)	1.54 (0.23; 2.84)	1.91 (0.51; 3.30)	< 0.01
Females								
Crude	-1.65 (-3.54; 0.23)	-0.48 (-2.39; 1.43)	-0.20 (-2.14; 1.75)	0.83	0.53 (-0.75; 1.81)	0.84 (-0.42; 2.11)	1.07 (-0.17; 2.31)	0.08
Model 1	-1.25 (-3.10; 0.60)	-0.26 (-2.13; 1.61)	-0.11 (-2.00; 1.78)	0.81	0.25 (-1.04; 1.55)	0.40 (-0.90; 1.70)	0.77 (-0.52; 2.06)	0.23
Model 2	-1.40 (-3.26; 0.45)	-0.48 (-2.37; 1.41)	-0.49 (-2.44; 1.47)	0.89	0.18 (-1.10; 1.47)	0.26 (-1.03; 1.55)	0.33 (-0.97; 1.62)	0.62

Reference category is 1st quartile.
[†]p values for linear trend
Model 1: adjusted for socioeconomic and health-related behaviors characteristics (EPITeen: parental education, smoking status, and leisure physical activity; Pelotas: skin color, monthly income, education, smoking status, and leisure physical activity).
Model 2: adjusted as model 1 plus energy intake from other food sources than ultra-processed.

SEÇÃO V. CONCLUSÃO DA TESE

A presente tese de doutorado é compreendida por três artigos, sendo um de revisão sistemática e dois artigos originais. No artigo de revisão sistemática da literatura, publicado na Revista de Saúde Pública, os autores encontraram que o consumo de alimentos ultraprocessados pode aumentar o risco de obesidade em adultos, com nível de evidência moderado. O primeiro artigo original, aceito para publicação na *Annals of Human Biology*, em abril de 2021, após a defesa da tese, foi conduzido com dados da Coorte de Nascimentos de 1982 de Pelotas/RS. Neste estudo o principal preditor da concentração sérica de interleucina-6 (IL-6) aos 30 anos de idade foi a adiposidade corporal para homens e mulheres, ou seja, a maior média de IL-6 sérica foi observada entre os participantes pertencentes as categorias mais elevadas de índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura, índice de massa gorda (avaliado pelo DXA), gordura visceral e gordura abdominal subcutânea (mensuradas pelo ultrassom).

O segundo artigo original desta tese foi desenvolvido em parceria com o Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto – Portugal. Além da coorte de Pelotas, foram analisados dados de outro estudo de coorte, conduzido em Portugal. O consumo de alimentos ultraprocessados foi associado com maior concentração média de IL-6 sérica, entre mulheres na coorte portuguesa e homens na coorte brasileira. Em análise de mediação, não houve evidência estatística de que essa relação possa ser explicada pela massa gorda.

Sendo assim, a consistência dos resultados do primeiro artigo original utilizando diferentes técnicas de mensuração da composição corporal, sobretudo as medidas antropométricas IMC e circunferência da cintura, indicam a relevância deste estudo sob o ponto de vista da saúde pública, particularmente para países de baixa e média renda em que não sejam disponíveis tecnologias avançadas para avaliação da composição corporal, bem como, na atenção básica à saúde do Brasil, onde a análise das medidas antropométricas citadas são recomendadas e viáveis na avaliação do estado nutricional. Ainda, os achados reforçam a importância de estratégias que visam prevenção e controle da obesidade.

Os outros dois estudos da presente tese indicam que o consumo de alimentos ultraprocessados pode contribuir para obesidade e inflamação crônica, mensurada pela IL-6 sérica. Esses resultados fortalecem e adicionam evidência científica às orientações do Guia Alimentar para a População Brasileira, o qual faz parte das ações voltadas para promoção da saúde e mitigação da obesidade no âmbito da saúde pública do país.

SEÇÃO VI. NOTA À IMPRENSA

Pesquisa aponta relação entre o consumo de alimentos ultraprocessados e inflamação crônica

Uma revisão da literatura, desenvolvida por pesquisadores vinculados ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia da Universidade Federal de Pelotas, encontrou evidências de que o consumo de alimentos ultraprocessados pode aumentar o risco de obesidade em adultos. Esse mesmo grupo, analisando dados da Coorte de Nascimentos de 1982 de Pelotas/RS, observou que os participantes obesos têm concentrações mais elevadas de interleucina-6 (IL-6) no sangue, aos 30 anos de idade. A IL-6, enquanto marcador biológico de inflamação crônica, tem sido apontada como um fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, principal causa de morbidade e mortalidade em todo o mundo.

Em parceria com o Instituto de Saúde Pública da Universidade do Porto – Portugal, os pesquisadores brasileiros desenvolveram uma pesquisa inédita, incluindo, além da coorte de Pelotas, dados de outro estudo de coorte, conduzido em Portugal. Os resultados encontrados mostraram que o consumo de alimentos ultraprocessados está relacionado com maiores concentrações de IL-6, entre mulheres na coorte portuguesa e nos homens da coorte brasileira. A obesidade não explicou a relação entre o consumo de alimentos ultraprocessados e IL-6. Esse resultado não compromete a estratégia de evitar a obesidade, enquanto importante forma de prevenção e controle do risco cardiovascular e de inflamação crônica.

A nutricionista e principal autora dos estudos citados, Francine Santos, faz questão de ressaltar: “Os nossos resultados reforçam ainda mais que por si só os alimentos ultraprocessados conferem danos à saúde, particularmente inflamação crônica que foi o foco do nosso estudo. Embora mais pesquisas sejam primordiais para agregar conhecimento e melhorar a compreensão das diferenças que encontramos entre homens e mulheres, nossos resultados conferem mais uma evidência científica para a regra de ouro do Guia Alimentar para a População Brasileira - prefira sempre alimentos *in natura* ou minimamente processados e preparações culinárias a alimentos ultraprocessados”.

APÊNDICES

Apêndice A

Figuras: síntese da revisão de literatura

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(FARGNOLI <i>et al.</i> , 2008) EUA	Coorte <i>Baseline</i> : 1976 1922 enfermeiras 30-55 anos	QFA (1984, 1986 e 1990) <i>Alternative Healthy Eating Index</i> (AHEI) com nove componentes: vegetais, frutas, oleaginosas e soja, razão de carne branca e vermelha, gordura trans, fibras totais, razão gordura poli-insaturada e satura, uso a longo prazo de multivitamínico e consumo moderado de álcool. Maior escore indica dieta mais saudável.	Adiponectina (sérica e forma de alto peso molecular), concentrações de resistina e outros biomarcadores de inflamação, disfunção endotelial e resistência à insulina (1989 – 1990).	AHEI foi inversamente correlacionado com IL-6 ($r = -0,08$). Participantes com maior média de aderência ao AHEI tinham 22% menor concentração sérica de IL-6.
(CASAS <i>et al.</i> , 2014) Espanha	ECR 12 meses 164 analisados 55-80 anos, com alto risco para DCV	QFA Grupo 1: dieta mediterrânea + 50 mL/d de azeite de oliva extra virgem. Grupo 2: dieta mediterrânea + 30g/d de oleaginosas. Grupo 3: dieta com baixo teor de gorduras.	Fatores de risco clássicos para DCV e marcadores de inflamação, aterosclerose ou relacionados à instabilidade da placa.	Decréscimo significativo de IL-6 após 12 meses de intervenção nos grupos 1 (-0,3) e 2 (-0,4) em relação ao <i>baseline</i> , considerando a diferença média.
(LABONTE <i>et al.</i> , 2014) Canadá	ECR (<i>crossover</i>) 112 analisados 18-70 anos, com PCR > 1 e < 10 mg/L	QFA Grupo intervenção: padrão alimentar prudente (baixa ingestão de ácidos graxos saturados, <i>trans</i> , colesterol e sódio, de acordo com recomendações internacionais e evitar alimentos processados e energeticamente densos) + laticínios Grupo controle: padrão alimentar prudente. 4 semanas de cada dieta 4 a 8 semanas de período <i>wash-out</i> .	Biomarcadores de inflamação e genes atuantes como fatores de transcrição e envolvidos na resposta inflamatória.	As concentrações séricas de IL-6 reduziram em relação à dieta habitual do <i>baseline</i> nos grupos controle (-17,6%) e intervenção (-19,9), mas essas mudanças não diferiram entre os dois grupos. Gene que expressa IL-6 foi retirado da análise, por apresentar um nível de expressão baixo para ser detectado em metade das amostras.

Figura 11 (continua): Síntese dos artigos de delineamento longitudinal selecionados na revisão de literatura.

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(NAVARRO <i>et al.</i> , 2014) EUA	ECR (<i>crossover</i>) 63 analisados 20-40 anos	Registros alimentares Grupo 1 (basal): livre de vegetais Grupo 2: basal + única porção de crucíferos Grupo 3: basal + duas porções de crucíferos Grupo 4: 1 porção de crucíferos + 1 porção de vegetais apiaceous (família da cenoura) 14 dias de cada dieta 21 dias de período <i>wash-out</i> .	Biomarcadores de inflamação.	A média geométrica de IL-6 foi significativamente menor em 14 dias de dieta do grupo 3 e 4, em comparação com a dieta basal, com uma redução de -19,1% e 20,4% respectivamente.
(AKBARALY <i>et al.</i> , 2015) Inglaterra	Coorte <i>Baseline</i> : 1985-1988 4600 funcionários públicos britânicos 35-55 anos	QFA (1991-1993 e 1997-1999) <i>Alternative Healthy Eating Index</i> (AHEI) baseado em nove componentes: vegetais, frutas, oleaginosas e soja, razão de carne branca e vermelha, gordura trans, fibras totais, razão gordura poli-insaturada e satura, uso a longo prazo de multivitamínico e consumo moderado de álcool. Maior escore indica dieta mais saudável. Baixo (<51,5 pontos) e alto $\geq 51,5$ pontos).	IL-6 (1997-1999 e 2002-2004)	Participantes com alto AHEI no baseline tem menor IL-6 ($\beta = -0,066$), ao comparar com aqueles de baixo escore no baseline. Entre aqueles com menor escore no baseline a cada 10 pontos de aumento no AHEI nos 6 anos de exposição reduz 4,2% a concentração média de IL-6. Diferença média das duas mensurações de IL-6 foi -8,1% e -8,6% entre aqueles que mudaram de menor para maior escore de AHEI ou mantiveram alto AHEI, respectivamente, em relação aos indivíduos que se mantiveram no menor escore de AHEI. IL-6 não foi associada com subsequente mudança no AHEI durante o acompanhamento em análise transversal.
(CASAS <i>et al.</i> , 2016) Espanha	ECR 5 anos 165 randomizados 55-80	QFA Grupo 1: dieta mediterrânea + 50 mL/d de azeite de oliva extra virgem. Grupo 2: dieta mediterrânea + 30g/d de oleaginosas. Grupo 3: dieta com baixo teor de gorduras.	Marcadores relacionados à aterosclerose.	Em adultos com alto risco para DCV, aos 3 e 5 anos de estudo os alocados para os grupos 1 e 2 apresentaram redução nas concentrações plasmáticas de IL-6 em relação ao <i>baseline</i> , ($\geq 35\%$ para ambos). Em relação ao grupo 3, IL-6 reduziu no grupo 1 aos 3 e 5 anos e o grupo 2 teve redução significativa apenas aos 5 anos (valor-p $\leq 0,006$, para todas as associações apresentadas).

Figura 11(continua): Síntese dos artigos de delineamento longitudinal selecionados na revisão de literatura.

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(HUANG <i>et al.</i> , 2016) EUA	Coorte <i>Baseline</i> : 1989 831 25-42 anos	QFA (1995 ou 1999 e 2011) <i>Alternative Healthy Eating Index- 10</i> (AHEI-10) baseado em onze componentes: vegetais, frutas, grãos integrais, oleaginosas e legumes, ácidos graxos de cadeia longa, ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), consumo moderado de álcool; menor ingestão de bebidas açucaradas, razão de carne e carne processada, gordura trans e sódio. Maior escore indica dieta mais saudável e com maior qualidade.	Biomarcadores do eixo cérebro- adiposo (1996-1999 e 2010-2011).	Em enfermeiras IL-6 foi inversamente associada com os quintis AHEI-10 apenas no modelo ajustado para idade com 3% menor concentração para cada 10 pontos de aumento no escore (^b valor p = 0,02). Aumento na qualidade da dieta não foi associado com a concentração de IL-6.
(SANTIAGO-TORRES <i>et al.</i> , 2016) EUA	ECR (<i>crossover</i>) 53 analisados 18-45 anos, mulheres com ascendência mexicana	Registros alimentares Dieta tradicional mexicana fundamentada na literatura de alimentos consumidos até 1940 (antes da ocidentalização): preparações com à base de alimentos <i>in natura</i> , gorduras animais e leite integral. Dieta dos EUA baseada no reportado pela população do país no estudo NHANES: carboidratos refinados, óleos vegetais, leite sem ou com baixo teor de gordura, alimentos processados, açúcar e bebidas açucaradas. 24 dias de cada dieta 28 dias de período <i>wash-out</i>	Biomarcadores de inflamação e de sensibilidade à insulina	Não houve significativo efeito da intervenção nas concentrações de IL-6, inclusive na análise estratificada por categoria de IMC ou circunferência da cintura.
(KIM <i>et al.</i> , 2017) Austrália	ECR (<i>crossover</i>) 51 analisados >18 anos	Registros alimentares Dieta com elevada carne vermelha e carne processada e grãos refinados. Dieta elevada em laticínios, grãos integrais, oleaginosas e legumes. 4 semanas de cada dieta média de 3 semanas para período <i>wash-out</i>	Marcadores de inflamação e produtos finais de glicação avançada (AGEs).	Não houve diferença entre os dois grupos e dieta e a concentrações de IL-6.

IL-6: interleucina-6; QFA: questionário de frequência alimentar; ECR: ensaio clínico randomizado; DCV: doença cardiovascular; PCR: proteína C reativa; IMC: índice de massa corporal; NHANES: *National Health and Nutrition Examination Survey*; ^ar: coeficiente de correlação de Spearman; ^bvalor p: valor p de tendência linear.

Figura 11: Síntese dos artigos de delineamento longitudinal selecionados na revisão de literatura.

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(DAI <i>et al.</i> , 2008) Vietnã	Transversal 345 gêmeos homens Amplitude da média de idade: 53,8 a 54,8 anos	QFA <i>Mediterranean Diet Score</i> (MDS): sete componentes positivos (cereais, vegetais, frutas e oleaginosas, legumes, peixes, razão de ácidos graxos monoinsaturados e saturados e moderado consumo de álcool) e dois componentes negativos (carnes e laticínios). Maior escore indica maior aderência à dieta mediterrânea.	Biomarcadores de inflamação	Cada uma unidade de aumento no MDS foi associada com um decréscimo de 5,1% da concentração de IL-6. Para pares monozigotos, cada uma unidade de aumento de MDS foi associada com 7,7% menor concentração de IL-6 e entre dizigotos essa diferença foi de 11,3%. Associação entre MDS e IL-6 não foi diminuída ao comparar os pares de gêmeos, sugerindo que fatores genéticos e familiares são fracos confundidores dessa relação.
(FUNG <i>et al.</i> , 2008) EUA	Análise transversal 88517 enfermeiras [#] 30-55 anos	QFA Escore de adesão à <i>Dietary Approaches to Stop Hypertension</i> (DASH) baseado em oito componentes, os quais recomenda-se alto consumo (frutas, vegetais, grãos integrais, oleaginosas e legumes) moderado (laticínios com baixo teor de gordura) e baixo (carne vermelha e processada, bebidas açucaradas e sódio).	Doença arterial coronariana e biomarcadores relacionados à DCV	A média geométrica de IL-6 para os quintis do escore de aderência à dita DASH foi 1,95 ng/L, 1,82 ng/L, 1,81 ng/L, 2,08 ng/L e 1,69 ng/L (^b valor p = 0,04).
(MA <i>et al.</i> , 2008) EUA	Transversal 1958 mulheres 50-79 anos	QFA Consumo de fibras na dieta (total, solúvel e insolúvel).	Marcadores de inflamação	Associação inversa entre IL-6 e ingestão de fibra total, solúvel e insolúvel (^b valor p = 0,01, 0,004 e 0,001, respectivamente). Ao estratificar para etnia foi observada associação significativa apenas para americanos europeus (valor p de tendência = 0,007).

Figura 12 (continua): Síntese dos artigos de delineamento ou análise transversal selecionados na revisão de literatura.

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(NETTLETON <i>et al.</i> , 2008) EUA	Transversal 5042 45-84 anos	QFA Dois PA definidos por análise de componentes principais: PA saudável (grãos integrais, frutas e oleaginosas/sementes) e PA tipo Ocidental (óleos e gorduras adicionados, carne processada e batata frita).	Fatores de risco para DCV.	PA saudável foi inversamente associado com IL-6 (^b valor p = <0,001).
(SALAS-SALVADO <i>et al.</i> , 2008) Espanha	Análise transversal 772 55 – 80 anos	QFA Segundo dieta mediterrânea: Alimentos “benéficos”: óleo de oliva virgem, vegetais, frutas, oleaginosas, peixe e frutos do mar, carne branca ao invés de carne vermelha, molhos caseiros e vinho tinto. Alimentos “prejudiciais”: carne vermelha, laticínios com alto teor de gordura, doces e salgados comerciais, bebidas açucaradas artificiais.	Marcadores de inflamação.	Maior consumo de cereais (^b valor p = 0,005) e frutas (^b valor p = 0,008) foi associado inversamente com concentração de IL-6, em indivíduos com alto risco cardiovascular.
(PANAGIOTAKOS <i>et al.</i> , 2010) Grécia	Transversal 3042 18-89 anos	QFA Consumo de produtos lácteos	Marcadores de inflamação.	Em relação aos indivíduos com menor consumo de produtos lácteos (<8 porções/semana), aqueles consumiam 11 a 14 e > 14 porções/semana apresentaram aproximadamente 5% e 9% menor concentração de IL-6. O aumento de uma porção por semana de produtos lácteos com baixo teor de gordura foi relacionado com uma redução média de 0,066 ng/ml de IL-6.
(HOEBEECK <i>et al.</i> , 2011) Bélgica	Análise transversal 2487 35-55	QFA Índice da dietético com 3 componentes: qualidade, diversidade e equilíbrio foi calculado para mensurar a aderência ao <i>Food-based dietary guidelines</i> (FBDGs) belga. Escore de 100% indica total aderência ao FBDGs.	Marcadores de aterosclerose femoral ou carótida e/ou inflamação.	Relação inversa entre o escore de qualidade da dieta e elevada IL-6 em homens (β = -0,001).

Figura 12 (continua): Síntese dos artigos de delineamento ou análise transversal selecionados na revisão de literatura.

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(MEYER <i>et al.</i> , 2011) Alemanha	Análise transversal 981 homens 45-64 anos	Registros alimentares PA calculado por três métodos: RRR, PLS e ACP.	Marcadores de inflamação, doença arterial coronariana e mortalidade (todas as causas).	Os seguintes alimentos apresentaram carga fatorial $\geq 0,15$ pelos três métodos e correlação com IL-6 positiva para cerveja ($r = 0,08$) e negativa para consumo de vegetais frescos e cozidos e chá ($r = -0,07$), frutas frescas ($r = -0,12$), pão integral e coalhada ($r = -0,08$), oleaginosas ($r = -0,06$) e pão doce ($r = -0,10$).
(ESMAILZADEH; AZADBAKHT, 2012) Irã	Transversal 486 professoras 40-60 anos	QFA Leguminosas: lentilhas, ervilhas, grão de bico, diferentes tipos de feijões (soja não foi considerada).	Moléculas de adesão e biomarcadores de inflamação.	Participantes no maior tercil de ingestão de leguminosas têm 31,1% menor concentração de IL-6 do que aqueles no menor tercil.
(ROOT <i>et al.</i> , 2012) EUA	Transversal 1000 18-85 anos	QFA Consumo de frutas e vegetais.	Marcadores de inflamação e de estresse oxidativo.	IL-6 foi significativamente menor com o aumento nas categorias do consumo de frutas e vegetais combinados ($p = <0,0001$). Ao estratificar por sexo, a associação foi significativa apenas para mulheres ($p = <0,0003$).
(JIANG <i>et al.</i> , 2014) China	Transversal 1005 mulheres 40-70 anos	QFA Vegetais crucíferos tradicionais da dieta chinesa.	Marcadores de inflamação de estresse oxidativo.	A diferença média da concentração de IL-6 no 5º quintil de consumo de crucíferos foi 24,68% menor em relação ao 1º quintil. Na análise do desfecho como uma variável contínua, uma curva em forma de L entre consumo de vegetais crucíferos e IL-6 foi sugerida (valor $p = 0,004$).

Figura 12 (continua): Síntese dos artigos de delineamento ou análise transversal selecionados na revisão de literatura.

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(KANERVA <i>et al.</i> , 2014) Finlândia	Transversal 6490 Amplitude da média de idade: 46,9 a 61,8 anos.	QFA <i>Baltic Sea Diet Score</i> (BSDS) baseado em nove componentes: frutas, vegetais e cereais nórdicos, leite com baixo teor de gordura e sem gordura, razão de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) e ácidos graxos saturados e trans, baixa ingestão de carne vermelha e carne processada, gordura total e moderada ou baixa ingestão de álcool. Maior escore indica maior aderência à dieta do mar báltico.	Marcadores de inflamação.	Ao analisar o BSDS em quintis não houve associação significativa com IL-6.
(SOTOS-PRIETO <i>et al.</i> , 2016) EUA	Análise transversal 842 (HLS) e 1181 (dieta), descendentes de porto riquenhos 45 – 75 anos	QFA Qualidade da dieta segundo recomendações da <i>American Heart Association</i> (AHA) para redução do risco de DCV. <i>Healthy Lifestyle Score</i> (HLS) que inclui dieta, comportamento sedentário e prática de atividade física, fumo, suporte social e em rede e sono.	Marcadores de inflamação.	O aumento de 20 unidades no HLS foi associado com IL-6 ($\beta = -0,55$). Associação positiva entre dieta e IL-6 ($\beta = -0,75$) e ($\beta = -0,13$ ao incluir no ajuste demais fatores comportamentais do HLS).
(YU <i>et al.</i> , 2016) EUA	Análise transversal 5013 profissionais de saúde 30-75 anos	QFA Consumo de oleaginosas incluiu: amendoim e outras oleaginosas (uma porção equivalente a 28 gramas), manteiga de amendoim foi excluída.	Marcadores de inflamação.	A concentração relativa de IL-6 decresceu com o aumento na frequência de consumo de oleaginosas (^b valor p = 0,016).

Figura 12 (continua): Síntese dos artigos de delineamento ou análise transversal selecionados na revisão de literatura.

Autor Ano País	Delineamento N Idade	Método de avaliação e componentes da dieta	Desfecho	Principais resultados sobre IL-6
(TABUNG <i>et al.</i> , 2017) EUA	Análise transversal 7170 profissionais de saúde 25 – 75 anos	QFA <i>dietary inflammatory index (DII)</i> baseado em nutrientes. <i>Empirical dietary inflammatory pattern (EDIP)</i> baseado em alimentos e grupos de alimentos. <i>Composite dietary inflammatory index (CDII)</i> derivado da combinação dos dois índices. Menor escore indica dieta anti-inflamatória (maior qualidade).	Marcadores inflamatórios	A diferença relativa de IL-6 entre o 5 ^a quintil e 1 ^o quintil para mulheres foi +23%, +49% e +30%. Nos homens essa diferença foi de +14%, +24% e +27%, para EDIP, DII e CDII respectivamente. A proporção de variância total de IL-6 explicada pelos três índices foi maior para CDII em ambos os sexos em relação ao DII e EDIP.

IL-6: interleucina-6; QFA: questionário de frequência alimentar; PA: padrões alimentares; DCV: doença cardiovascular; RRR: *reduced rank regression*; PLS: *partial least squares regression*; ACP: análise de componentes principais; NAHNES: *National Health and Nutrition Examination Survey*; IMC: índice de massa corporal.

#autor informa que usou uma subamostra para os biomarcadores, mas não o número de indivíduos da subamostra; ^ar: coeficiente de correlação de Spearman; ^bvalor p: valor p de tendência linear.

Figura 12: Síntese dos artigos de delineamento ou análise transversal selecionados na revisão de literatura.

APÊNDICE B

Protocolo ilustrado da dosagem de IL-6

Protocolo ilustrado da dosagem de IL-6

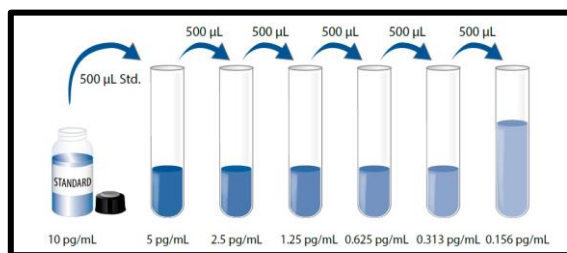
Quantikine® HS ELISA – Human IL-6 Immunoassay

1. *HUMAN IL-6 HS STANDARD E PREPARO DA CURVA (DILUIÇÃO SERIADA)*

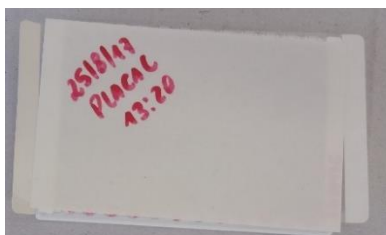
- Reconstituir **Human IL-6 STANDARD** em geralmente 5 mL de **RD6-11 diluent**, entretanto, deve-se confirmar o volume a ser utilizado. Homogeneizar e deixar descansar por **15 minutos**.
- Pipetar **500 µL** do calibrador diluente **RD6-11** nos ependorfs identificados, conforme abaixo, para a diluição seriada.

A	0 (branco)
B	0,156 pg/mL
C	0,313 pg/mL
D	0,625 pg/mL
E	1,250 pg/mL
F	2,500 pg/mL
G	5 pg/mL
H	10 pg/mL

- Realizar a diluição seriada.



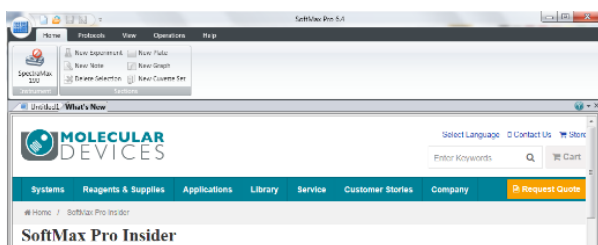
- Pipetar **100 µL** de **reagente RD1-75** em todos os poços; agitar bem antes do uso e durante o uso; misturar 10 vezes dentro de cada poço.
- Pipetar **100 µL** de cada amostra de soro nos poços correspondentes. Cobrir a placa com a película adesiva e identificada (data, placa e horário final de incubação); incubar a placa no shaker sob agitação por **2 horas/ 500 ± 50 RPM (programação 05 x 100 rpm no shaker)**.



2. DESENHAR A PLACA no programa da leitora (SPECTRAMAX® 190 MOLECULAR DEVICES)

- Abrir programa SoftMax Pro 6.4
- Clicar duas vezes no *link* SoftMax Pro 6.

Abrirá a seguinte janela:



Clicar em:

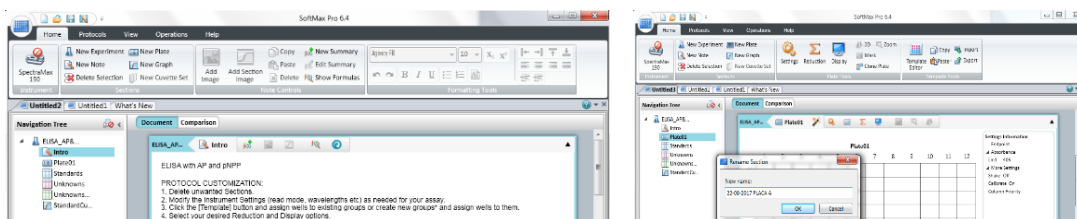
a) *Protocols*

b) *Protocol manager*

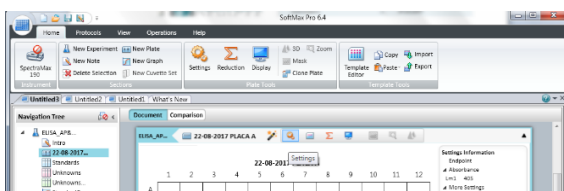
c) *Protocol library*

d) *ELISA- Endpoint AP and pNPP (Alkaline Phosphatase)*

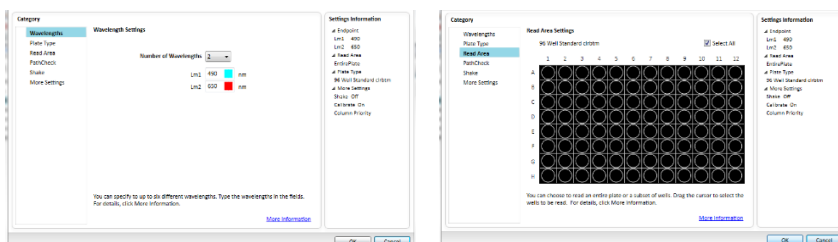
- Clicar em *INTRO* e com o botão direito do *mouse* em *PLATE 01 = RENAME*



- Clicar na opção *SETTINGS/NUMBER*

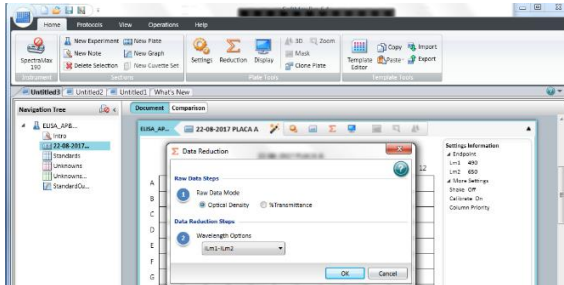


- Marcar leitura para os dois filtros *NUMBER of WAVELENGTHS 490/650*
- Marcar leitura da placa completa *READ AREA*
- Clicar em *OK*

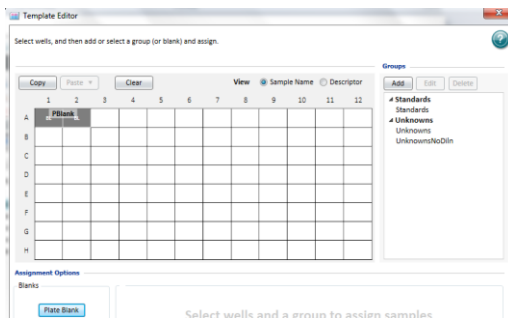


- Marcar *DATA REDUCTION*

- Clicar 1 *RAW DATA MODE/ OPTICAL DENSITY*
- Clicar 2 *DATA REDUCTION STEPS/ WAVELENGTH OPTION* Lm1-Lm2



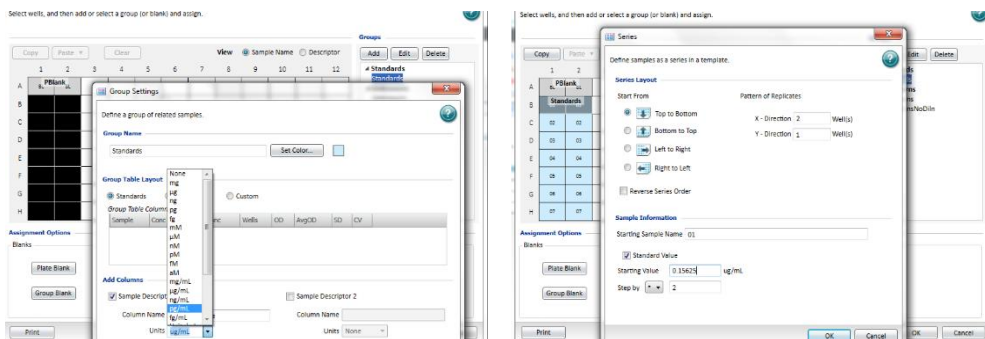
- Marcar o *TEMPLATE EDITOR*
- Clicar em *PLATE BLANK/ OK*



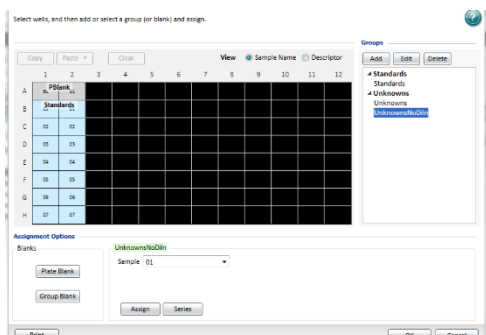
- Clicar em:

a) *STANDARDS/EDIT/ UNIDADE* (pg/mL)

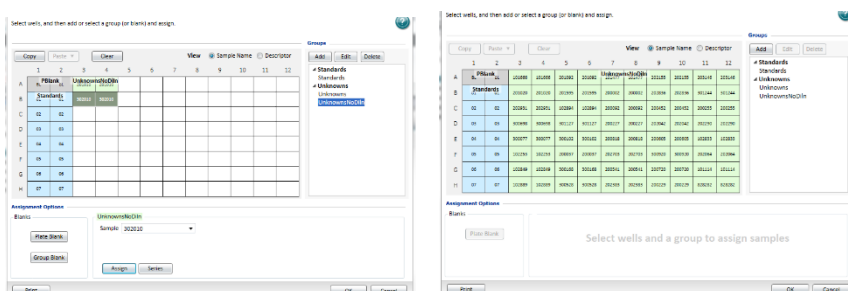
b) *STANDARDS/SERIES*



- Marcar o ensaio (AMOSTRAS)
- Clicar em: *UNKNOWN SNO DILIN*



- Clicar na DUPLICATA DAS AMOSTRAS/SAMPLE (número da amostra)/ ASSING/OK



3.PRIMEIRA LAVAGEM DA PLACA

PASSOS DA LAVAGEM:

- Remover o líquido dos poços por inversão da placa;
 - Dispensar 200 µl de tampão de lavagem.
 - Colocar a placa no agitador (*Shaker*) por 30 segundos.
- Repetir os passos A-C por cinco vezes, em um total de seis lavagens. Ao final inverter a placa uma vez em um papel limpo removendo assim o excesso de **solução de lavagem**.



4. CONJUGADO HUMAN IL-6

- Adicionar **200 µL** de **conjugado HUMAN IL-6** em cada poço inclusive no H; incubar por **2 horas a temperatura ambiente sob agitação**, ou seja,incubar no shaker por **2 horas/ 500 ± 50 RPM (05 x 100 rpm)**.

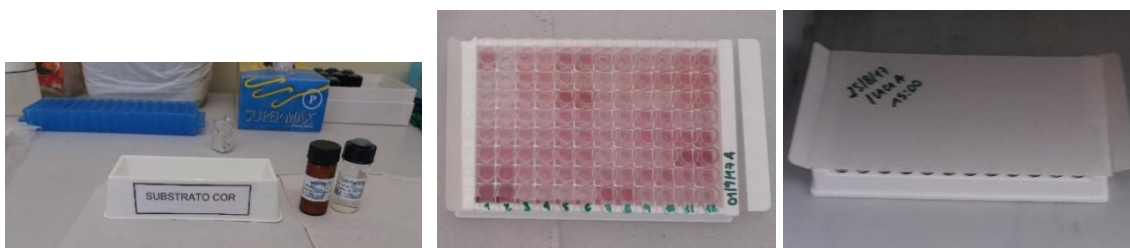


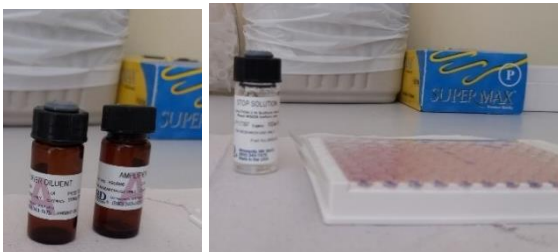
5. SEGUNDA LAVAGEM DA PLACA

- Repetir processo realizado na primeira lavagem.

6. SOLUÇÃO SUBSTRATO, SOLUÇÃO AMPLIFICADORA E SOLUÇÃO STOP

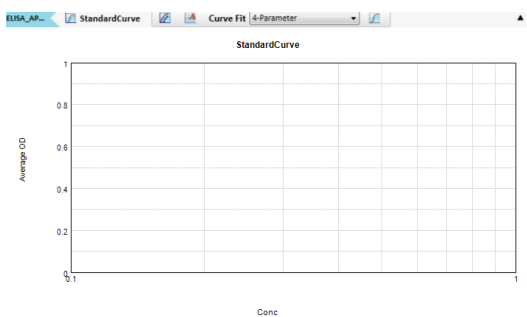
- Reconstituir o substrato liofilizado com 6.0 mL de diluente de substrato (**10 minutos antes de usar**); **misturar bem**.
- Adicionar **50 µL** em cada poço da solução substrato e deixar agir por **1hora**. Em temperatura ambiente protegido da luz (**NÃO LAVAR**).
- Adicionar **50 µL de solução amplificadora de cor** e deixar agir por **30 minutos**. Em temperatura ambiente.
- Adicionar **50 µL de solução STOP** em todos os poços (inclusive no H).



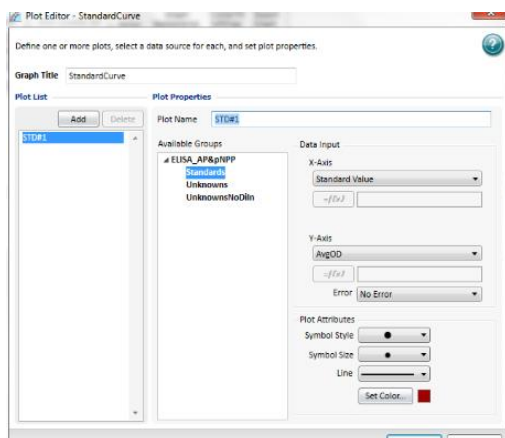


7. LEITURA DA PLACA

- Ler em comprimento de onda **490 nm**. (Dentro de 30 min., após a incubação da solução *STOP*). Se disponível usar **650 ou 690 nm**. (490/650).
- Marcar *STANDARD CURVE*
- Clicar em *CURVEFIT* (tipo de curva)



- Marcar em *PLOT EDITOR – STANDAR CURVE*
- Clicar nas seguintes opções abaixo/*OK*



- Salvar placa: *EDITOR/SAVE*