

CAPÍTULO 2

PRINCIPAIS DESENHOS DE ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

Cassia Maria Buchalla
Maria Regina Alves Cardoso

Existem diferentes maneiras de classificar os estudos epidemiológicos. Assim, eles podem ser divididos em *experimentais* (ou de *intervenção*) e estudos *observacionais*, nos quais o investigador não faz nenhuma intervenção.

Entre os estudos de intervenção estão o ensaio clínico e o chamado quase-experimento. A diferença básica entre estes dois desenhos de estudo é que no ensaio clínico os indivíduos são alocados de maneira aleatória para os grupos de intervenção e controle, enquanto que no quase-experimento isto não ocorre.

Os estudos observacionais, por sua vez, podem ser divididos em *descritivos* e *analíticos*. Estudos descritivos estimam a ocorrência de um evento em um grupo populacional e levantam hipóteses sobre a ocorrência do mesmo. Os estudos analíticos têm como função primordial testar hipóteses. Muitas vezes estes estudos são realizados em seqüência. Inicialmente, um estudo descritivo gera uma ou mais hipóteses sobre a causa ou fatores associados à ocorrência do evento de interesse e um estudo analítico é realizado posteriormente para testar essas hipóteses.

Há ainda uma chave de classificação que divide os estudos entre aqueles em que as informações são obtidas para os indivíduos separadamente e aqueles em que as informações disponíveis vêm de dados agregados.

Entre os desenhos de estudo analíticos com dados individuais encontram-se os estudos transversais, os estudos de caso-controle e os estudos de coorte.

Por outro lado, entre os estudos com dados agregados estão os estudos ecológicos e as metanálises. Estes estudos são realizados a partir de dados secundários, ou seja, com dados já coletados.

É interessante conhecer o tipo de desenho de estudo utilizado em uma pesquisa, pois assim se tem um critério para julgar sua qualidade. No entanto, nem sempre é possível classificá-lo em um dos tipos. Existem os chamados “estudos híbridos”, nos quais há uma mescla de características dos diversos tipos de desenho de estudo.

Neste capítulo serão apresentadas, de forma resumida, as principais

características dos estudos epidemiológicos mais comumente realizados. O objetivo deste capítulo, portanto, não é esgotar as diversas possibilidades de elaboração de estudos epidemiológicos, mas servir de guia para o entendimento da literatura médica.

As Figuras 2.1 e 2.2 resumem a classificação e as principais características dos desenhos de estudo.

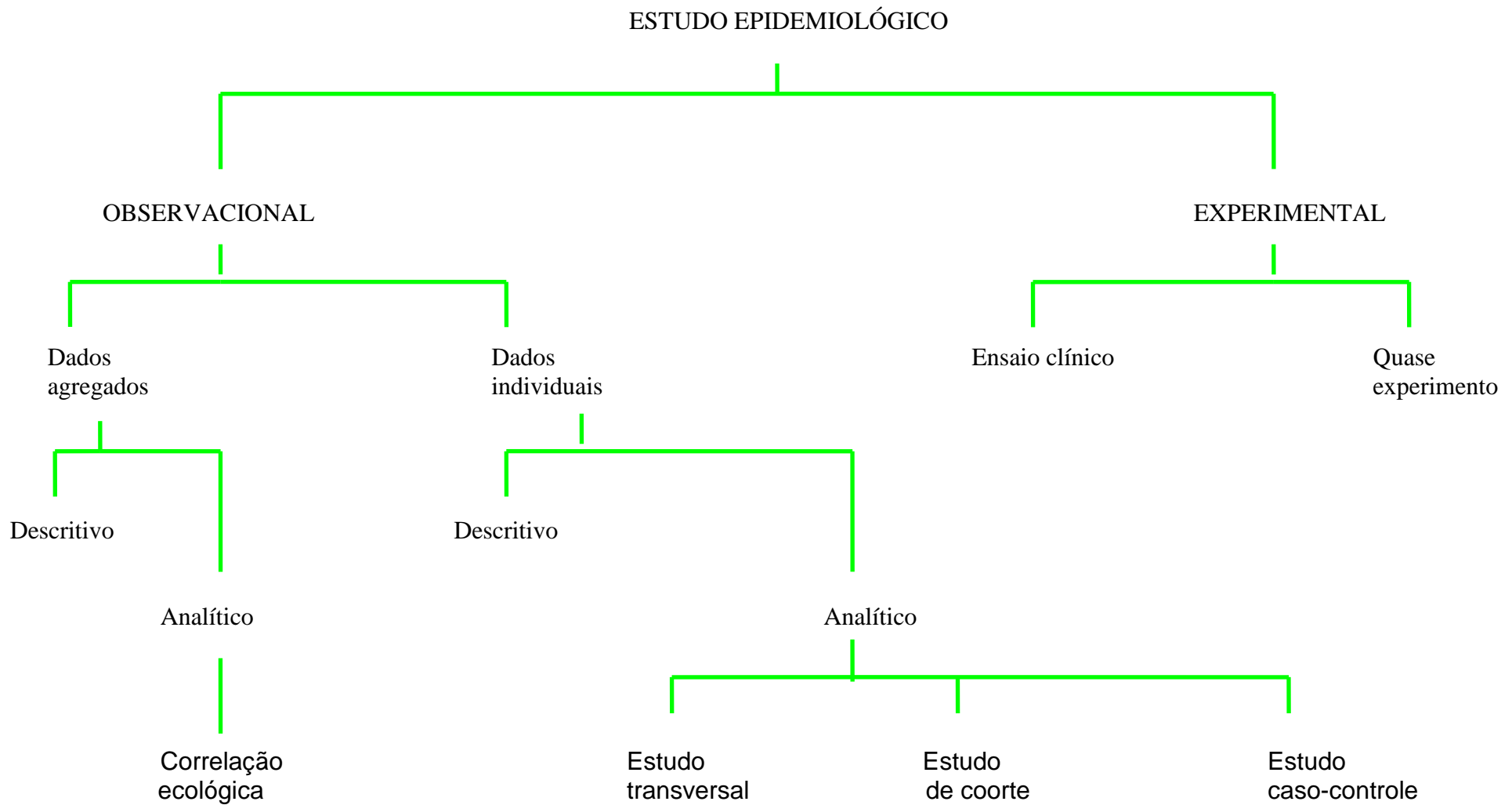


FIGURA 2.1. TIPOS PRINCIPAIS DE DESENHO DE ESTUDO

Ensaio Clínico – é um estudo experimental ou de intervenção bastante utilizado na clínica

Coorte – é um tipo de estudo observacional em que grupos de pessoas são seguidos para avaliar a ocorrência, no tempo, de algum agravo à saúde.

Caso-control – também um tipo de estudo observacional em que pessoas doentes são comparadas com pessoas sem a doença em estudo, em relação à história de exposição.

Estudo transversal – também conhecido como estudo de prevalência, a exposição e o efeito são medidos no mesmo momento.

Metanálise – estudo que resume os resultados encontrados em outros estudos sobre o mesmo tema.

Estudos ecológicos – ou estudos de dados agregados, utiliza dados já coletados de grupos populacionais.

Figura 2.2. Principais características dos desenhos de estudo

ESTRATÉGIA DOS DESENHOS

O primeiro passo, seja para a elaboração de um estudo epidemiológico, como para a leitura de artigos científicos, é definir ou conhecer o objetivo da investigação. O objetivo do estudo em geral está implícito no título do projeto de pesquisa ou do artigo, como por exemplo, *Cardiovascular disease outcomes during 6,8 years of hormone therapy* (Grady *et al.*, 2002).

Uma vez definido o objetivo, o próximo passo é identificar a população de estudo. Assim, como no estudo citado acima, se o objetivo é avaliar doenças cardiovasculares (o efeito) entre mulheres que fazem uso de terapia de reposição hormonal (a exposição), uma alternativa é estudar um grupo de mulheres sem doenças cardiovasculares e que fazem uso de reposição hormonal e avaliar, no decorrer de um período de tempo definido, o aparecimento dessas doenças nesse grupo.

No entanto, não basta saber quantos casos aparecem nesse grupo, se não se comparar com a incidência de doença cardiovascular nas mulheres que não fazem uso de hormônio. Portanto, é fundamental selecionar uma população de mulheres constituída por um grupo que faz reposição hormonal e outro que não faz, para que se possa verificar se a ocorrência da doença é maior em um desses dois grupos.

Estudos nos quais grupos de pessoas são seguidos no tempo denominam-se estudos de seguimento ou estudos longitudinais e podem incluir uma intervenção, como o ensaio clínico, ou não, como o estudo de coorte. Neste último, os indivíduos participantes não sofrem nenhuma intervenção, apenas são observados (daí o nome “observacional”) no decorrer do tempo.

Definir a população de estudo é uma etapa fundamental, pois está diretamente relacionada ao tipo de estudo em questão. Estudos como o citado acima, em que se pretende avaliar os efeitos de um tratamento, só podem ser realizados com pessoas que, no momento do início do estudo, não são portadoras desse efeito em particular.

Conhecer a condição inicial de cada participante é fundamental para garantir a qualidade do estudo. O pesquisador deve, desde o planejamento, estabelecer quais serão as medidas utilizadas para avaliar as questões de interesse do estudo, a exposição ou intervenção e seus efeitos. As medidas tomadas para isso, desde história clínica, avaliação física e todos os tipos de exames, devem ser descritos com clareza, assim como o a frequência, a periodicidade com que essas medidas serão realizadas e os instrumentos utilizados para efetuar as mensurações.

Entretanto, algumas vezes o efeito a ser medido é bastante raro, de forma que, para se observar um número suficiente de eventos para que se possa realizar uma análise estatística, é necessário estudar um número grande de pessoas ou estender o estudo por muito tempo. Para contornar esse problema, e estudar doenças raras, lança-se mão de uma outra estratégia de estudo, aquela em que se parte da doença e se volta, no tempo, para avaliar a história de exposição dos indivíduos. Esse tipo de estudo é denominado estudo de caso-controle.

Existem estudos, portanto, que são mais adequados para determinados objetivos. Desta forma, selecionada a população e o tipo de estudo, a etapa seguinte consiste em definir as variáveis a serem estudadas, como serão coletadas e mensuradas.

Os resultados dos estudos são avaliados no contexto de qualidade. Assim, a validade dos resultados está na dependência da ausência de erros nas diferentes etapas do estudo, desde o planejamento até a análise dos dados coletados.

Os erros, em epidemiologia, são divididos em *aleatórios* e *sistemáticos*.

Os erros aleatórios, ou erros de amostragem, devem-se ao fato que somente uma parte da população é observada no estudo. Assim, para minimizar o erro aleatório basta

aumentar o tamanho da amostra.

Os erros sistemáticos, também conhecidos como vícios, vieses ou “bias”, devem-se a imperfeições no planejamento, implementação ou análise dos dados do estudo.

Os vícios mais comuns em estudos epidemiológicos são de seleção da amostra e de mensuração das variáveis de interesse, embora exista uma extensa lista de erros descritos e passíveis de serem cometidos.

Vícios de seleção ocorrem quando os participantes do estudo não são os mais adequados. Seria o caso de ter, por exemplo, iniciado o estudo “*Cardiovascular disease outcomes during 6,8 years of hormone therapy*” acompanhando mulheres que já apresentavam doenças cardiovasculares. Nesse caso, a avaliação do efeito da terapia hormonal seria viciada devido a erro na seleção da amostra de participantes.

O segundo grupo de vícios mais freqüentes são os relacionados à mensuração das variáveis. O *vício de mensuração* ocorre toda vez que são utilizados instrumentos inadequados para mensurar as variáveis de interesse (equipamentos não calibrados, questionários mal construídos, testes laboratoriais não padronizados, etc.). Este tipo de vício também é encontrado nos estudos em que a mesma variável foi medida de forma diferente em cada grupo de estudo (por exemplo, casos e controles). Sabendo que uma característica ou exposição está associada à doença, o investigador pode inadvertidamente procurar obter, de forma mais intensa, a informação sobre essa característica no grupo que está doente.

O fator de confusão é uma variável que explica a associação encontrada entre outras duas (fator em estudo e efeito ou doença). Para ser considerado fator de confusão uma característica deve estar associada tanto ao fator em estudo como ao efeito. O exemplo clássico é a associação entre o consumo de café e a ocorrência de infarto do miocárdio. Essa associação sofre a influência do tabagismo, que é o fator de confusão e o verdadeiro responsável pela associação encontrada.

Existem muitos outros vícios descritos que devem ser conhecidos e evitados no planejamento de qualquer tipo de estudo, para garantir a qualidade do mesmo.

Etapas para a elaboração de um estudo epidemiológico

1. Definir, de forma clara, o **objetivo** do estudo
2. Estabelecer qual a **população** adequada para atingir o objetivo do estudo
3. Em função do objetivo e da população, definir o **tipo de estudo**
4. Definir as **variáveis** a serem estudadas assim como os instrumentos para medi-las
5. Definir a **análise estatística** a ser empregada
6. Avaliar as questões relacionadas à **ética** em pesquisa com seres humanos

Figura 2.3. Principais etapas para a elaboração de estudos epidemiológicos

ESTUDOS TRANSVERSAIS

Em um estudo transversal as informações são coletadas de cada indivíduo em *um ponto no tempo*. A principal medida de frequência de um evento neste estudo é a prevalência e, assim, os estudos transversais são também conhecidos como estudos de prevalência e podem ser *descritivos* ou *analíticos*.

Os estudos transversais descritivos são usados para a coleta, em um ponto no tempo, de informações sobre a frequência e distribuição de variáveis relacionadas ao processo saúde-doença na população em estudo.

Os estudos transversais analíticos são realizados para investigar a associação entre exposições (fatores de risco) e efeito (doença ou outra condição) em estudo.

O estudo de Montilla e colaboradores, sobre estado nutricional e consumo alimentar de mulheres tratadas no Ambulatório de Saúde da Mulher Climatérica é um exemplo de estudo transversal. Neste estudo foram obtidas as medidas antropométricas das mulheres para se calcular o índice de massa corpórea e ainda foi utilizado um questionário para avaliar o consumo alimentar.

A característica dos estudos transversais analíticos que os distingue dos estudos longitudinais é que a informação sobre os possíveis fatores de risco e sobre os efeitos são obtidas simultaneamente. Ao contrário, nos estudos longitudinais, o estudo começa a partir de um grupo de indivíduos que são conhecidamente expostos ou não-expostos aos potenciais fatores de risco e esta “coorte” de indivíduos é acompanhada no tempo

para verificar em cada indivíduo se houve ou não o aparecimento do efeito de interesse. Esta distinção é muito importante, dado que podem existir estudos transversais repetidos.

Este fato de que os estudos transversais estão limitados em relação a obtenção das medidas dos fatores de risco e dos efeitos em um ponto simultâneo no tempo é uma das mais importantes restrições da utilidade dos dados da exposição atual em estudos de corte transversal analíticos. Isto é porque a exposição atual a um potencial fator de risco frequentemente não é a exposição etiologicamente importante. Quase sempre, a exposição deve preceder o efeito por um período de tempo substancial. Por exemplo, o intervalo médio entre a exposição à infecção por hepatite B e a observação clínica de um carcinoma hepatocelular é de cerca de 40 anos, o intervalo equivalente entre infecção por HIV e AIDS é frequentemente de vários anos e é de vários dias ou semanas para muitas outras doenças infecciosas.

O grau que a exposição atual reflete a exposição etiologicamente importante determina o grau de utilidade do estudo para propósitos etiológicos. Obviamente que quanto menos a exposição variar, mais ela refletirá a exposição etiologicamente importante. Um exemplo de quando a exposição atual reflete a exposição etiologicamente importante é quando se tem fatores genéticos (tais como grupos sanguíneos ou sexo). Ao contrário, a investigação de hábitos alimentares como um fator de risco para gastroenterites agudas pode muito bem fornecer resultados inválidos, dado que muitos indivíduos alterarão seus hábitos alimentares durante um episódio de diarreia e vômito. As estimativas de prevalência no ponto da exposição em estudos analíticos transversais podem ainda ser apropriadas, entretanto, quando há uma boa correlação entre a exposição atual e a exposição etiologicamente importante e se a recordação de exposições passadas é significativamente menos confiável que o relato da exposição atual (por exemplo, intensidade de exercícios físicos).

Para tentar resolver de alguma maneira o problema de que a exposição etiologicamente importante normalmente não é a exposição atual, os estudos transversais analíticos frequentemente incluem questões sobre exposições ocorridas no passado. Por exemplo, em um estudo dos riscos associados com a exposição a um particular produto químico usado em um processo industrial, pode-se solicitar aos indivíduos que descrevam a sua história de trabalho fazendo uma lista com datas e

duração em cada tipo de atividade de trabalho que desempenhou. Estes dados podem, entretanto, ainda ser sujeitos a problemas de recordação.

Por esta razão, e por causa de outros potenciais vícios, os estudos transversais somente oferecem pistas para a identificação de possíveis fatores etiológicos, os quais devem ser confirmados ou refutados por outros tipos de estudo (por exemplo, estudos longitudinais, estudos de caso-controle ou estudos de intervenção). Em outras palavras, embora os estudos transversais possam ser usados em algum grau para testar hipóteses, eles são mais comumente usados para gerar hipóteses.

Validade e reprodutibilidade dos métodos de estudo

Taxa de resposta

A ausência de resposta é um problema para todos os estudos epidemiológicos. Quase invariavelmente, as pessoas que respondem ou participam de um estudo (respondentes) têm características diferentes daqueles que não participam (não-respondentes). Isto pode introduzir um vício substancial nas estimativas de prevalência dos estudos de corte transversal.

Vários fatores afetam a taxa de resposta inicial. Abaixo temos alguns exemplos:

- características do desenho do estudo, por exemplo: entrevista pessoal *versus* questionário para auto-resposta; extensão do questionário ou entrevista; desconforto de algum procedimento (por exemplo, coleta de sangue); etc.
- a autoridade e integridade da organização responsável pelo estudo
- o interesse que os indivíduos têm no tópico sob investigação
- as características da população de estudo (exemplo: idade, nível educacional)
- se os indivíduos esperam ter algum benefício com a participação no estudo (exemplo: receber tratamento no caso de terem uma doença).

Se a taxa de resposta inicial for baixa (80% é o valor geralmente admitido como mínimo, embora algumas vezes isto não é alcançado), então os não-respondentes podem ser lembrados da importância de sua participação por correio (se isto for factível) ou por visitas pessoais. Algumas vezes a não-resposta pode ser devida a uma recusa do indivíduo porque ele não entendeu bem a proposta do estudo ou pode ser porque o indivíduo não foi contatado na primeira visita. Assim, uma segunda visita pode resolver

o problema e diminuir a ausência de resposta.

Amostragem

Representatividade da amostra em relação à população de estudo

A maneira como a amostra é selecionada da população de estudo é crítica para a representatividade da amostra. A regra geral para maximizar a representatividade é obter uma amostra aleatória da população de estudo.

Se a população de estudo for constituída por todas as pessoas que vivem em uma certa área, a amostra deve então incluir representantes de todos os grupos desta população. Certos grupos populacionais são facilmente esquecidos (por exemplo: moradores de rua; pessoas que vivem em instituições como creches, asilos, etc.). Para se evitar isto, deve-se pensar como garantir a inclusão destes grupos antes de se tomar a amostra. Se a inclusão destes grupos inviabilizar o estudo devido a problemas logísticos ou de custo, a população de estudo deve ser redefinida.

Tamanho da amostra

A amostra deve ser suficientemente grande para que as estimativas de prevalência obtidas tenham uma precisão adequada e assim possam atender aos objetivos do estudo. Por outro lado, qualquer acréscimo no tamanho da amostra vai refletir no custo do estudo, assim deve haver um balanço entre estes dois fatores: precisão e custo. Tabelas e programas de computador (EPI-INFO por exemplo) ajudam a estimar o tamanho de amostra necessário para o estudo [devemos informar ao programa a provável prevalência da característica que estamos estudando, o poder do estudo e a amplitude do intervalo de confiança (precisão) que nós desejamos].

Após definir e selecionar a população de estudo, todas as variáveis de estudo são medidas em um único momento. Dependendo do objetivo do estudo, a coleta das informações pode ser feita apenas por meio de uma entrevista, usando um questionário, ou por combinação deste com medidas tomadas em um único momento.

Finalmente, como foi mencionado acima, um estudo de corte transversal usualmente não pode fazer mais do que indicar associações entre variáveis. Entretanto, muitos investigadores se esquecem disto e tentam fazer inferências causais a partir das associações que eles observaram.

ESTUDOS DE CASO-CONTROLE

Um estudo de caso-controle começa com a identificação de um grupo de **casos** (indivíduos com uma doença) e um grupo de **controles** (indivíduos sem a doença). As prevalências de exposição a um determinado fator são então medidas nos dois grupos e comparadas. Se a prevalência da exposição for maior nos casos do que nos controles, esta exposição pode então ser um **fator de risco** para a doença. Se a prevalência for menor entre os casos, então esta exposição pode ser um **fator de proteção** para a doença.



Figura 2.4. Representação esquemática do desenho de um estudo caso-controle

No passado, os estudos de caso-controle eram normalmente usados para doenças crônicas (exemplo: câncer). Atualmente eles estão cada vez mais sendo utilizados para doenças infecciosas e acidentes.

A primeira etapa a ser cumprida no delineamento de um estudo de caso-controle é a definição clara das hipóteses específicas a serem testadas. O passo seguinte é a definição de caso.

Definição de caso

Deve-se usar critérios precisos para a identificação de um caso e estes podem ser baseados em achados laboratoriais ou na clínica.

Existem estudos que selecionam casos incidentes, ou seja, casos novos que aparecem dentro de um período fixo de tempo. Outros estudos incluem casos prevalentes, ou seja, todos os casos com a doença em um ponto no tempo (ou em um período curto de tempo). Nesta situação, os pacientes selecionados podem ter tido a doença por algum tempo e podem ser diferentes em termos de exposição se comparados com os casos novos (incidentes). Os casos prevalentes podem ter mudado os seus

hábitos (ou exposições) *por causa* da doença.

Fonte de casos

Tendo sido definido o tipo de caso (incidente ou prevalente), há duas possibilidades para o recrutamento dos mesmos. Os casos podem ser selecionados dentre todos os pacientes de um certo hospital que preenchem os critérios de definição de caso e assim tem-se um estudo ‘de base hospitalar’. A segunda alternativa seria selecionar os casos de uma população definida em um período fixo de tempo e, dessa forma, tem-se um estudo ‘de base populacional’. O ponto importante na seleção de casos para o estudo é que o grupo recrutado deve ser representativo de todos os casos da população. Isto leva a pensar que a sobrevivência dos pacientes, o encaminhamento a hospitais especializados e recusas podem ser fatores limitantes para a representatividade dos casos dos estudos de base hospitalar.

Definição de controle

Devem preencher os mesmos critérios definidos para os casos com exceção daqueles que se referem à doença.

Um ponto fundamental em estudos de caso-controle é que a seleção de ambos casos e controles deve ser feita independentemente da exposição ao fator(es) em estudo.

Fonte de controles

A norma é que a fonte de controles deve ser a mesma que a fonte de casos. Se os casos são uma amostra de base populacional de casos incidentes em um período específico de tempo, os controles devem então ser selecionados desta mesma população durante o mesmo período de tempo.

Entretanto, se os casos são recrutados entre os pacientes admitidos em um determinado hospital, a escolha dos controles não é tão direta assim. A fonte de controles vai depender da natureza da doença. Se todos os casos são graves o suficiente para terminar em um hospital, então é razoável selecionar controles da mesma população que originou os casos. Se, todavia, nem todos os casos vão para o hospital em estudo e há algum tipo de seleção entre aqueles que vão (por exemplo, os casos mais graves), então os controles devem ser recrutados em outro hospital. Escolher controles ‘hospitalares’ adequados é freqüentemente difícil e deve-se tomar muito cuidado para

evitar vícios de seleção. É surpreendentemente fácil escolher inadvertidamente um grupo controle que tem uma prevalência de exposição mais alta ou mais baixa que a população em geral (exemplo: em um estudo para investigar o papel do álcool no câncer de mama, o uso de controles do pronto-socorro do mesmo hospital levaria a vícios porque este grupo consome mais álcool que a população em geral).

A escolha de um grupo controle adequado é a parte mais difícil do desenho de um estudo de caso-controle. Alguns estudos usam mais que um tipo de grupo controle, mas isto pode levar a problemas: os dois grupos controles podem fornecer resultados diferentes e esta situação fica difícil de interpretar.

Uma regra prática é que pode-se definir como um bom controle aquele que, se apresentasse a doença, faria parte do estudo, como caso.

Pareamento

Pareamento se refere ao procedimento onde um ou mais controles são recrutados para cada caso baseado na similaridade de certas características diferentes daquelas que estão em estudo. Variáveis que são comumente usadas para pareamento são idade e sexo, mas outras como local de residência, situação sócio-econômica e paridade também são muito usadas. As características escolhidas para pareamento são os potenciais **fatores de confusão**. Confusão é a alteração da relação doença/exposição ocasionada pela associação de outros fatores (fatores de confusão) tanto com a doença como com a exposição. O pareamento é feito para aumentar o poder do estudo, mas é importante que o pareamento fique restrito aos potenciais fatores de confusão e não atinja a exposição sob investigação.

Estudos caso-controle aninhados

Estudos caso-controle aninhados dentro de estudos de coorte estão se tornando muito frequentes. Os casos que vão surgindo a medida que a coorte vai sendo acompanhada prospectivamente vão se tornando os casos do **estudo caso-controle aninhado** e uma amostra dos indivíduos da coorte não afetados pela doença vão se tornando os controles.

Os casos e controles ficam automaticamente pareados por fatores que são comuns a todos os indivíduos da coorte, por exemplo, em uma coorte ocupacional os casos e controles serão pareados por fatores tais como situação ocupacional.

Fonte de informação sobre exposição

As informações sobre exposição podem ser obtidas por meio de entrevista pessoal, exame médico, registros ocupacionais ou outros, amostras biológicas e, ainda, medida direta do ambiente.

A informação não pode ser viciada e não pode ser influenciada pelo fato do indivíduo ser um caso ou um controle.

Quando o processo de obtenção dos dados de exposição pelo investigador é diferente para casos e para controles pode ocorrer o chamado *vício de observação*. O ideal seria que o investigador ou entrevistador não conhecesse a hipótese do estudo e quem é um caso e quem é um controle. De qualquer maneira, para minimizar este tipo de vício os investigadores devem ser treinados para coletar dados não viciados. A informação deve ser coletada de um modo objetivo e os mesmos questionários e formulários devem ser usados para casos e controles.

O *vício de resposta* é outro tipo de vício que pode ocorrer quando o modo como a informação sobre exposição que é dada pelos indivíduos estudados difere entre casos e controles. Assim, exposições raras têm menor chance de serem lembradas. As exposições reconhecidas como associadas à doença são mais recordadas pelos pacientes, uma vez que o exercício de procurar a causa de sua doença já foi feito, estimulando sua memória. Para minimizar, portanto, este tipo de erro os indivíduos estudados não devem conhecer a hipótese de estudo e ambos casos e controles devem ter incentivos similares para lembrar eventos passados.

Os vícios de observação e de resposta são freqüentemente conhecidos como tipos de **vícios de mensuração** (ou informação).

Análise

No entanto, conhecer apenas a história da exposição no grupo de casos não é suficiente para buscar uma associação causal. Esta associação só poderá ser verificada quando se comparar a chance de exposição dos indivíduos que são casos da doença com a chance de exposição daqueles que não são casos (grupo controle). Isto pode ser feito usando uma medida de efeito da exposição, a razão de chances (odds ratio) (veja Capítulo 1)

Vantagens dos estudos de caso-controle

As vantagens deste tipo de estudo referem-se a:

1. são estudos relativamente baratos
2. são relativamente rápidos
3. podem investigar vários possíveis fatores de risco
4. são úteis para doenças raras
5. podem empregar testes mais demorados ou caros
6. podem testar hipóteses atuais
7. podem permitir consistência das medidas dado que a exposição e o efeito são medidos ao mesmo tempo

Desvantagens dos estudos de caso-controle

As desvantagens deste tipo de estudo referem-se a:

1. são muito vulneráveis a vícios de seleção de casos e controles
2. são muito vulneráveis a vícios de observação
3. há problemas para definir a seqüência dos eventos (causa levando a efeito)
4. não são adequados para investigar exposições raras
5. não podem obter estimativas da incidência de doença

ESTUDOS DE COORTE

São estudo observacionais em que um grupo de indivíduos expostos e um grupo de indivíduos não expostos a uma causa potencial de doença são acompanhados no tempo e a incidência da doença em um grupo é comparada com a incidência no outro grupo.

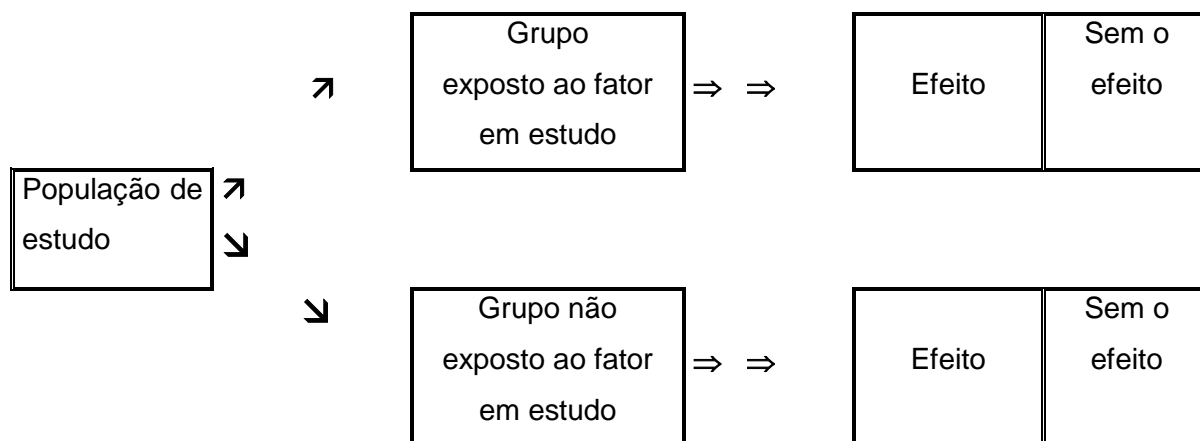


Figura 2.5. Representação esquemática do desenho de um estudo de coorte

Para conduzir este tipo de estudo é essencial uma hipótese clara seja formulada antes do início da investigação. Considerando que esses estudos tendem a ser muito caros, eles em geral são implementados somente depois que a hipótese tenha sido explorada com outros desenhos de estudo mais baratos.

Grupos de estudo

Nos estudos de coorte os indivíduos são selecionados e classificados em dois grupos: **expostos** e **não expostos**.

A seleção dos grupos de estudo baseados na exposição permite o estudo de exposições relativamente raras.

Nos estudos de coorte, idealmente, os grupos expostos e não expostos são semelhantes com exceção da exposição de interesse. Em coortes industriais isto pode ser relativamente simples de se conseguir. Muitas exposições químicas somente ocorrem entre os trabalhadores de certas indústrias. Frequentemente é possível assumir que o nível de exposição de populações que não trabalham neste ambiente seja praticamente zero. Portanto, outros trabalhadores da mesma área geográfica que não estão expostos ao produto químico de interesse podem ser escolhidos como grupo controle. Estes podem ser pessoas da mesma fábrica mas que trabalham em outras áreas e funções (controles internos) ou também a população residente na área da fábrica (controles externos).

A seleção de grupos controles apropriados é um dos aspectos mais difíceis dos estudos de coorte (assim como nos estudos de caso-controle). Por exemplo, um

problema que surge freqüentemente é se os controles são verdadeiramente não expostos. As pessoas podem se mudar de um emprego para outro dentro de uma área geográfica, portanto controles que sejam trabalhadores podem ter sido expostos em um trabalho anterior. Similarmente, as pessoas podem deixar de fumar e recomeçar a fumar, elas poder ter ficado estressadas no passado mas não durante o período do estudo, ou elas podem não se lembrar de exposições passadas. Portanto, a definição e o grau de precisão das medidas de exposição influenciarão a seleção do grupo controle.

Exposição

Estudos de coorte histórica: usam registros da exposição dos indivíduos no passado. Estes registros então permitem que os indivíduos sejam classificados de acordo com os grupos de exposição. A classificação usada nestes casos vai depender do tipo de informação disponível. Isto muitas vezes gera imprecisão na mensuração da exposição.

A maior vantagem desses estudos é que eles abreviam o estudo das doenças com um longo período de latência (intervalo longo entre exposição e doença). Todavia, deve-se contrabalançar o potencial de **erro de classificação** de exposição e o possível ganho em tempo. Um método histórico muito útil é aquele que usa amostras biológicas que foram guardadas e que podem ser analisadas para servir como um indicador de exposição. Assim, bancos de soro, por exemplo, podem ser avaliados para determinar a exposição a viroses e agentes químicos. Este método minimiza imprecisões nas medidas de exposição.

A coleta de dados sobre a exposição atual permite que métodos mais modernos de mensuração possam ser usados e os vícios na classificação da exposição podem ser minimizados. Entretanto, há o problema do tempo necessário para que o efeito apareça após uma determinada exposição. Se a doença tiver um período de latência curto e for relativamente comum, não haverá problema. Esta é a situação de muitas doenças infecciosas para as quais estudos de coorte ‘prospectivos’ podem ser particularmente apropriados. Uma vantagem adicional de estudos de coorte contemporâneos é que as variáveis de confusão também podem ser medidas adequadamente.

Variáveis de confusão

Dado que os estudos de coorte são estudos observacionais, a exposição não é aleatoriamente alocada aos grupos estudados. Isto pode levar a diferenças entre os

grupos em termos das outras exposições que não são a de interesse. Entretanto, isto somente tem importância se estas exposições diferentes também forem fatores de risco para a doença em estudo. Para se eliminar este problema há a possibilidade de se realizar um ajuste estatístico na etapa de análise dos dados. Para isto é necessário que as informações sobre estes potenciais fatores de confusão tenham sido coletadas com a mesma qualidade que aquelas referentes à exposição em estudo

Um grande problema nas coortes históricas é que estas informações geralmente não existem. Quando o estudo é conduzido prospectivamente, a coleta de dados sobre possíveis fatores de confusão já é considerada desde o planejamento do estudo.

Mensuração do efeito

Uma importante vantagem dos estudos de coorte é que eles oferecem a possibilidade de se observar vários efeitos para uma mesma exposição. O espectro de efeitos a serem observados depende do método de mensuração a ser usado (dados coletados rotineiramente ou levantamento (vigilância) da do(s) evento(s) dentro da coorte).

O método de avaliação do efeito deve ser aplicado de maneira rigorosamente idêntica para os indivíduos expostos e para os não expostos para que não seja introduzido nenhum **vício de mensuração**.

O seguimento incompleto dos indivíduos pode introduzir **vícios de seleção**. Assim, é importante realizar o máximo esforço para obter a maior participação possível dos indivíduos durante todo o tempo definido para o seguimento.

Vantagens e desvantagens dos estudos de coorte

As vantagens dos estudos de coorte referem-se a:

1. a exposição é medida antes do início da doença.
2. as exposições raras podem ser estudadas selecionando grupos de indivíduos apropriados.
3. mais de um efeito (doença) pode ser estudado para uma mesma exposição.
4. a incidência da doença pode ser medida nos grupos de expostos e não expostos.

As desvantagens dos estudos de coorte referem-se a:

1. o estudo pode ser muito longo e caro, particularmente se o seguimento for

prospectivo e se o período necessário para se observar o efeito for longo.

2. mudanças na condição de exposição e nos critérios diagnósticos podem ocorrer durante o período do estudo e isto pode afetar a classificação dos indivíduos em expostos e não expostos e em doentes e não doentes.

3. a avaliação do efeito pode ser influenciada pela exposição.

4. a perda de indivíduos durante o seguimento pode introduzir sérios vícios no estudo.

ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS EXPERIMENTAIS

Em estudos epidemiológicos experimentais, também conhecidos como estudos de intervenção ou ensaios clínicos, os indivíduos participantes são alocados a diferentes grupos de acordo com a presença ou não de exposição. No entanto, nesses estudos é o pesquisador quem define quais os indivíduos que receberão a exposição. Esta exposição é uma medida preventiva ou terapêutica. Este tipo de estudo tem como principal vantagem a possibilidade de garantir a validade dos resultados.

Os estudos experimentais são classificados em dois grandes grupos: as intervenções terapêuticas e as intervenções preventivas.

As *intervenções terapêuticas* incluem pacientes que apresentam uma condição de saúde específica e o objetivo é avaliar a capacidade de determinada intervenção produzir a recuperação, reduzir sintomas, prevenir recrudescimento ou diminuir o risco de uma evolução desfavorável. Para este tipo de estudo, a unidade de amostragem e análise é o indivíduo.

As *intervenções preventivas* envolvem pessoas saudáveis e o objetivo é avaliar a capacidade de uma intervenção em prevenir a ocorrência de um evento indesejado. As unidades de amostragem nesses casos podem ser tanto os indivíduos como comunidades.

Considerando que os participantes são deliberadamente selecionados pelo pesquisador para receber ou não uma intervenção, os estudos epidemiológicos experimentais envolvem questões éticas importantes.

É necessário haver dúvida suficiente sobre a eficácia da intervenção a ser testada para que se justifique não oferecê-la à metade das pessoas incluídas no estudo, assim como deve-se ter uma grande expectativa de que o procedimento/tratamento seja

benéfico a ponto de justificar a oferta à outra metade dos participantes.

SELEÇÃO DOS INDIVÍDUOS A SEREM INVESTIGADOS

Um estudo epidemiológico experimental começa com a definição da população de referência, para a qual o investigador espera que os resultados do estudo sejam aplicáveis e gerem um possível impacto em termos de saúde pública. Portanto, a população de referência diz respeito à possibilidade de generalização dos resultados do estudo.

Entretanto, geralmente esta população de referência é difícil de ser atingida, assim uma população experimental é definida. Esta população é aquela que de fato é potencialmente elegível, segundo critérios de inclusão e exclusão previamente definidos, para participar no estudo. O investigador deve considerar a probabilidade de obter resultados válidos a partir da população experimental.

Considerando que a população experimental normalmente é muito grande, seleciona-se uma amostra de indivíduos para serem incluídos no estudo. Todavia, estes indivíduos para participarem do estudo necessitam de dar o seu consentimento, após serem devidamente esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos envolvidos na investigação.

Assim, os indivíduos que realmente participam do estudo experimental é uma pequena fração da população experimental e eles têm alta probabilidade de diferir dos que não participam em diversos aspectos relacionados ao evento investigado. Participantes de estudos experimentais tendem a apresentar taxas de morbidade e mortalidade menores do que as pessoas que se recusam a participar, e diferir em relação a hábitos e comportamentos relacionados à saúde. Embora essas diferenças não invalidem comparações entre os grupos incluídos no estudo, elas dificultam a possibilidade de generalizar os resultados aos não participantes e à população de referência.

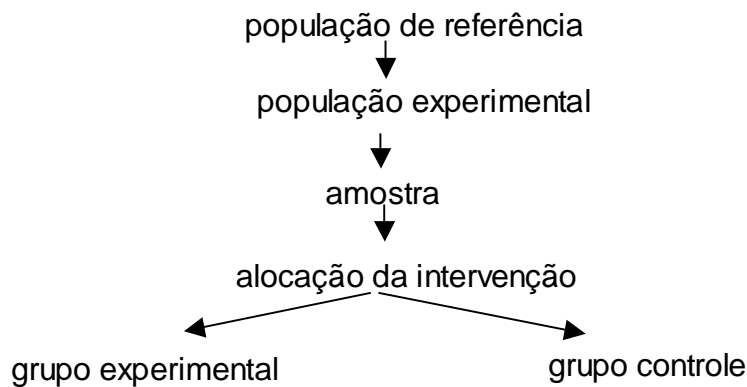


Figura 2.6. Representação esquemática da seleção dos indivíduos para um estudo epidemiológico experimental

ALOCAÇÃO DOS REGIMES DE INTERVENÇÃO

A alocação dos participantes aos grupos de intervenção ou controle deve ser realizada somente após os mesmos terem aceito participar no estudo e sua elegibilidade ter sido conferida. Os grupos devem diferir somente quanto à intervenção investigada, e para que isso seja garantido é necessário que a alocação seja aleatória, o que implica que haja sorteio dos participantes para a composição dos grupos. A alocação aleatória apresenta várias vantagens em relação a outros métodos de alocação. Ela elimina o potencial de vício por parte do investigador, evitando a alocação dos participantes em um grupo ou outro por critérios diferenciais. Outra grande vantagem da alocação aleatória é que em média os grupos serão semelhantes em relação a potenciais variáveis de confusão. Quanto maior o tamanho da amostra, maior o sucesso da alocação aleatória em distribuir os fatores que poderiam causar confusão igualmente entre os grupos.

MANUTENÇÃO E AVALIAÇÃO DA ADERÊNCIA AO REGIME ALOCADO

Geralmente os ensaios clínicos requerem a participação ativa dos indivíduos incluídos para a adesão ao regime de intervenção ao qual foram alocados. Por uma série de fatores, entretanto, eles podem não seguir tal regime ou mesmo decidir que não querem mais participar do estudo. Os resultados do estudo podem ser afetados se o número de pessoas que não seguem adequadamente o regime ao qual foram alocadas é

grande. Conseqüentemente, é necessário considerar como conseguir boas taxas de aderência ao regime estipulado durante o planejamento do estudo. A não aderência está relacionada ao tempo que os indivíduos devem permanecer no estudo, bem como à complexidade do protocolo de investigação. A seleção de pessoas que possam estar interessadas no estudo e que sejam colaborativas pode melhorar a aderência ao protocolo. Manter contatos freqüentes (por correspondência, telefonemas ou visitas) é outra forma de melhorar a aderência. Em algumas situações é possível oferecer algum tipo de incentivo para que a participação seja regular.

AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DA INTERVENÇÃO

O método a ser utilizado para a avaliação da evolução e resultado dos diferentes regimes de intervenção é outro aspecto fundamental a ser considerado no planejamento de um estudo experimental. O objetivo principal é evitar que a avaliação seja feita de forma diferencial entre os grupos estudados. Para isso, deve-se estabelecer claramente quais os aspectos que serão considerados como resultados finais e como os mesmos serão avaliados (por exemplo, com medidas objetivas, certificados de óbito, exame físico ou questionário). Pessoas que recebem qualquer procedimento médico tendem a relatar melhora do quadro, mesmo quando o procedimento não apresenta nenhum efeito fisiológico (efeito placebo). Além disso, pessoas que recebem alguma forma de procedimento tendem a prestar mais atenção a seus sintomas e, conseqüentemente, relatá-los com maior precisão. A forma mais adequada de garantir uma avaliação não viciada é evitar que tanto o observador como o participante saibam qual a intervenção recebida.

DELINEAMENTO FATORIAL

Como estudos epidemiológicos experimentais são muito dispendiosos, uma técnica utilizada para melhorar a eficiência no uso de recursos é testar duas ou mais hipóteses simultaneamente. Assim, se por exemplo o estudo envolve o teste de duas intervenções, os participantes podem primeiro ser alocados aleatoriamente em um de dois grupos para uma das intervenções, e em seguida há uma segunda alocação aleatória para um dos grupos da segunda intervenção.

A vantagem do delineamento fatorial é permitir testar duas ou mais questões

com apenas um acréscimo marginal ao custo de testar apenas uma das questões.

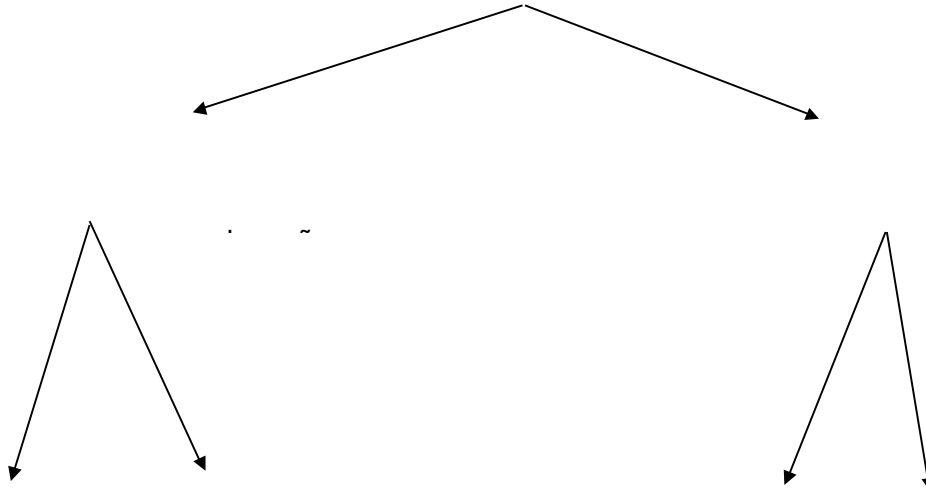


Figura 2.7. Representação esquemática do delineamento fatorial

REGRAS PARA INTERRUPÇÃO DO ESTUDO

Durante a fase de planejamento de um ensaio clínico é necessário estabelecer regras para decidir se a investigação deve ser interrompida antes do período previsto, seja porque o estudo já produziu evidências claras da superioridade do procedimento testado, seja porque há efeitos colaterais negativos que requerem a interrupção. Para isso, deve haver o monitoramento de resultados intermediários por um grupo independente. Como regra geral para esta tomada de decisão, avalia-se a evidência de existência de uma associação forte e persistente, que seria quase impossível que fosse produzida por chance. Essa associação é então considerada em termos de mecanismos biológicos, resultados de outros estudos, e a avaliação da razão risco-benefício em continuar a investigação.

O estudo WHI, por exemplo, estava previsto para ter uma duração de 8 anos e meio e foi interrompido após 5,2 anos, devido ao resultado apresentado até aquele

momento.

CÁLCULO DO TAMANHO DA AMOSTRA: PODER ESTATÍSTICO

O cálculo do tamanho da amostra é outro aspecto importante no planejamento de um ensaio clínico, pois é preciso ter poder estatístico para detectar diferenças que podem ser relativamente pequenas, mas que têm importância clínica. O poder estatístico depende não só do tamanho da amostra, mas também do número de eventos que os participantes apresentarem e da diferença em aderência ao protocolo por parte dos participantes.

Duas estratégias são utilizadas para garantir um número suficiente de eventos: inclusão de um de grupo de alto risco no estudo e a extensão da duração do estudo.

Para alcançar o tamanho e representatividade da amostra planejada, muitos estudos de intervenção para avaliar efeitos de medicamentos são realizados em vários locais (estudos multicêntricos). O WHI, por exemplo, foi realizado em 40 clínicas.

Em todo ensaio clínico há sempre algum grau de não aderência ao protocolo por parte dos participantes. A consequência é diminuir as diferenças entre os grupos quando elas existem na realidade, diminuindo assim o poder estatístico do estudo. Para avaliar o efeito da não-aderência, deve-se monitorá-la nos grupos do estudo de maneira similar.

ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO

A análise de estudos experimentais envolve basicamente a comparação da ocorrência do evento de interesse nos diversos grupos que receberam diferentes procedimentos. Para isto utilizam-se medidas de efeito de uma exposição, como a razão de riscos por exemplo, apresentadas no Capítulo 1.

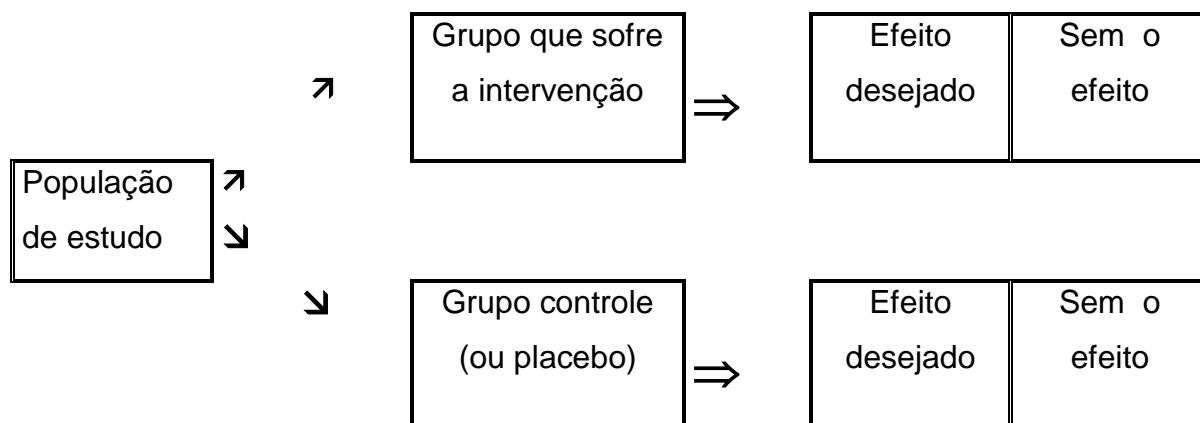


Figura 2. 8. Representação esquemática de um ensaio clínico

Uma característica que aparece na análise dos ensaios clínicos é a chamada “intenção de tratar”. Esta denominação diz respeito à forma que os participantes são analisados quando tendo sido alocados para um grupo, eles se transferem para outro. No estudo *WHI* [*Women’s Health Initiative* – que avaliou os riscos e benefícios da terapia de reposição hormonal] a análise primária dos dados utilizou o princípio da intenção de tratar, ou seja, mesmo que a mulher tenha deixado de usar a associação hormonal em estudo, ela continuou sendo considerada como do grupo de intervenção.

ESTUDOS DE REVISÃO OU METANÁLISE

Atualmente este tipo de estudo constitui um excelente recurso para profissionais de saúde se manterem atualizados. Os estudos apresentam uma revisão do que foi publicado sobre um tema, sintetizando seus resultados e utilizando como fonte o maior número possível de publicações que abordam a questão em estudo.

O planejamento do estudo segue as mesmas etapas dos demais, começando por definir o objetivo. A seguir define-se o tipo de estudo a ser revisado, suas características e a fonte onde serão pesquisados. É importante que sejam estabelecidos critérios para inclusão e exclusão de estudos na revisão sistemática. Esses cuidados asseguram a qualidade de uma revisão sistemática e devem ser detalhados no método do estudo.

Após a fase de busca e coleta dos estudos que farão parte da revisão, deve-se avaliar a heterogeneidade dos resultados de cada um. Os dados são coletados de cada estudo, em geral por revisores externos, independentes, para assegurar menor

possibilidade de erros ou tendenciosidade.

O resultado de um estudo de revisão deve permitir que o leitor conheça cada estudo incluído e seus resultados. Estes podem ser apresentados de forma individual, em um único gráfico, ou pode se calcular a estimativa sumário do efeito. A parte estatística deste tipo de estudo constitui a metanálise e inclui, além de uma medida única, que resume os resultados dos estudos revisados, a avaliação da heterogeneidade dos estudos. Cada estudo deverá ser classificado segundo suas características e a seus resultados será atribuído um peso. Este procedimento, de ponderar os estudos segundo suas qualidades, torna maior a contribuição dos melhores estudos.

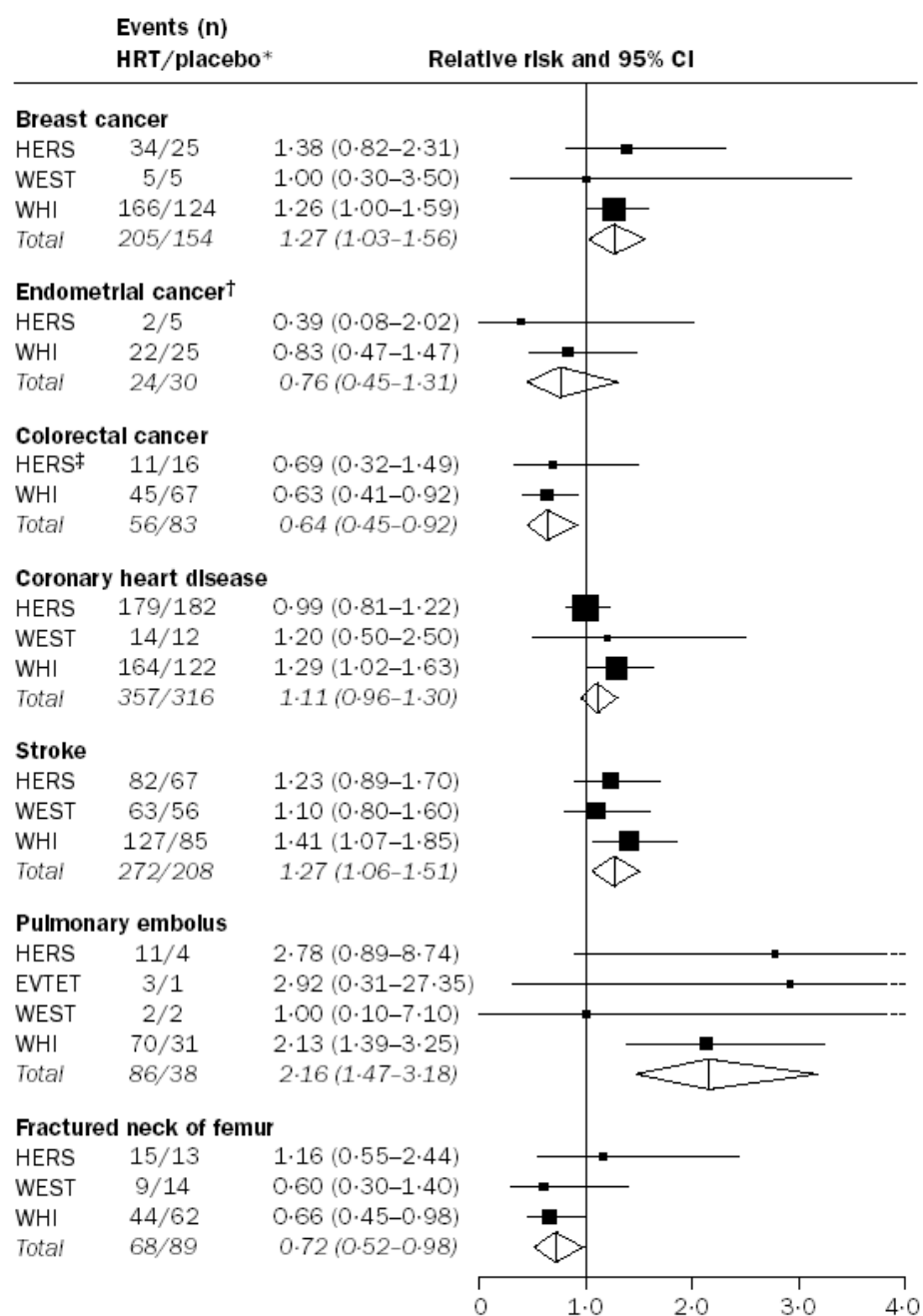
A apresentação dos resultados é característica dos estudos de revisão e pode ser verificado no esquema apresentado na Figura 2.9, do trabalho de Beral e colaboradores, de revisão sistemática dos ensaios clínicos sobre efeito de uso prolongado de terapia de reposição hormonal, publicado em 2002.

O gráfico resume os valores encontrados em cada ensaio clínico revisado, em relação à ocorrência de vários tipos de câncer, doenças coronariana, embolia pulmonar, acidente vascular cerebral e fratura do colo do fêmur, considerando as mulheres que fizeram reposição hormonal e as que tomaram placebo.

Principais vantagens e desvantagens

A grande vantagem desse tipo de estratégia é que permite um resumo importante dos principais resultados de estudos, principalmente quando os dados são conflitantes. Embora aparentemente fácil, requer o estabelecimento de critérios bem definidos e a busca, algumas vezes extensa, dos trabalhos publicados.

Uma limitação desse tipo de estudo é o fato de haver mais chance de estudos com resultados positivos serem publicados em relação aos demais. Esta característica é denominada vício de publicação, e deve ser evitado pela pesquisa, buscando informações junto aos autores, em anais de congresso, teses, etc. A identificação dessas fontes de coleta de dados aumenta a qualidade do estudo de revisão sistemática.



Summary of results for seven major conditions in trials of HRT

Tests for heterogeneity: breast cancer ($\chi^2=0.24$, $p=0.9$), endometrial cancer ($\chi^2=0.75$, $p=0.4$), colorectal cancer ($\chi^2=0.04$, $p=0.8$), coronary heart disease ($\chi^2=2.81$, $p=0.2$), stroke ($\chi^2=1.26$, $p=0.5$), pulmonary embolus ($\chi^2=0.74$, $p=0.8$), fractured neck of femur ($\chi^2=1.98$, $p=0.4$). *Equal numbers randomised to HRT and placebo in each trial; †results for WEST (2/0) not included, as oestrogen alone has different effect from oestrogen/progestogen on endometrial cancer; ‡colon cancer only.

Figura 2.9. Resumo dos resultados de sete condições importantes em ensaios clínicos de reposição hormonal

Fonte: Beral e cols.

ESTUDOS ECOLÓGICOS OU DE DADOS AGREGADOS

Além dos estudos observacionais já mencionados, outros podem ser conduzidos utilizando dados já registrados ou dados secundários. Os mais comuns são os estudos que analisam informações obtidas de grandes bancos de dados, como no caso dos estudos de mortalidade.

Em geral os estudos com dados secundários seguem um delineamento denominado **estudo ecológico**. Neste tipo de desenho a exposição e o efeito não são medidos em nível individual, mas sim em nível da população.

Este desenho de estudo não será discutido em detalhe aqui, mas é importante notar que os estudos ecológicos são particularmente vulneráveis a erros de interpretação porque a unidade de análise é a população e não o indivíduo.

Com estes estudos é possível relacionar a ocorrência da exposição e da doença em populações ou subgrupos populacionais, como por exemplo, a incidência de câncer de mama e o consumo de gordura.

Assim, os resultados desses estudos de dados agregados podem mostrar a tendência das doenças e levantar hipóteses sobre as causas de seu aumento ou diminuição, como o estudo sobre a tendência da mortalidade por doenças circulatórias no Brasil, entre 1970 e 1966, realizado por Mansur e colaboradores. Esse tipo de estudo, que avalia as tendências das doenças no tempo é chamado de estudo de séries temporais.

Principais vantagens e desvantagens

A maior vantagem dos estudos ecológicos é que pode-se obter vários tipos de informações de forma rápida, desde que existam dados confiáveis. São úteis para direcionar pesquisas mais específicas.

No entanto, os resultados deste tipo de estudo não podem ser aplicados aos indivíduos, pois as diferenças entre os mesmos não são consideradas. Uma associação entre uma exposição e uma doença observada em um estudo ecológico não pode ser diretamente transferida para o nível individual: as pessoas que apresentam a exposição naquela população podem não ser as mesmas que apresentam a doença. Isto é conhecido como *falácia ecológica*.

A Figura 2.10 apresenta um resumo das principais características dos estudos epidemiológicos mais comuns na literatura médica. O Capítulo 3 apresenta alguns aspectos relevantes sobre análise e interpretação de resultados de estudos epidemiológicos.

	Ensaio Clínico	Coorte	Caso-Controle	Prevalência	Revisão ou metanálise	Ecológico
Objetivo	Testar intervenções	Identificar associações entre exposição a fator e aparecimento do efeito	Identificar associações entre exposição a fator e aparecimento do efeito	Identificar a existência de fatores de exposição e de efeitos na população de estudo	Integrar os resultados dos estudos sobre um tema	Estudos com dados secundários que mostram a ocorrência de fatores de exposição e de efeitos em populações
População de estudo	Indivíduos livres do efeito alocados ao acaso para cada um dos dois grupos – de intervenção e não intervenção	Indivíduos sem o efeito a ser estudado, divididos em expostos e não expostos	Indivíduos com o efeito em estudo, comparados com pessoas sem o efeito, em relação à história da exposição ao fator em estudo.	Indivíduos dos quais as informações relacionadas à exposição ao fator e ao efeito serão coletadas uma única vez e ao mesmo tempo.	A unidade de estudo é cada um dos estudos revisados.	As variáveis de estudo são retiradas de bancos de dados e representam valores médios da população
Seguimento	Sim, no final do qual serão comparados os quatro grupos em relação ao efeito da intervenção.	Sim, no final do qual serão comparados os quatro grupos em relação ao aparecimento do efeito.	O seguimento é construído por informações relativas à história de exposição, que são coletadas por entrevista.	Não	Não	Não
Característica que aumenta a qualidade do estudo	Cego ou Duplo-cego	Maior número de participantes	Cuidados para evitar vícios de seleção, de mensuração e de confusão	Atenção ao medir as variáveis estudadas.	Cuidado na recuperação de todos os estudos publicados e não publicados sobre o tema.	A qualidade e confiabilidade dos dados.
Estatística	Tábua de sobrevida; χ^2	Tábua de sobrevida; χ^2	Odds Ratio e teste de hipótese	Razão das prevalências	Teste de homogeneidade dos estudos e um medida sumário do efeito.	Correlação
Vantagem	Maior controle	Cálculo da	Mais rápido e de	Pode se obter,	Possibilidade de	São fáceis e

		Incidência, história natural das doenças, associação da exposição com vários efeitos	menor custo. Ideal para estudos de doenças raras.	de forma rápida, informações importantes sobre vários aspectos e fatores úteis para orientar novos estudos.	mostrar dados conflitantes com uma conclusão baseada no peso de cada estudo	rápidos. Permitem uma idéia da situação da população
Desvantagem	Questão ética, perdas de seguimento e falta de adesão à intervenção	Perdas de seguimento, longa duração e custo elevado	Passível de vícios.	Problemas de acesso da população e vício decorrente da incidência e prevalência de determinados agravos	Tendência a ter mais trabalhos publicados com resultados positivos (vício de publicação). Juntar trabalhos de qualidade diferente.	Não representa as condições individuais. Não se considera variações entre pessoas – o que se denomina falácia ecológica

Figura 2.10. Resumo das principais características dos estudos epidemiológicos mais comuns na literatura médica

Referências Bibliográficas

Grady D; Herrington D; Bittner V; Blumenthal R; Davidson M; Hlatky M; Hsia J; Hulley S; herd A; Khan S; Newby LK; Waters D; Vittinghoff E; Wenger N. Cardiovascular disease outcomes during 6,8 years of hormone therapy. Heart and Estrogen/Progestin replacement study follow-up (HERS II). **Jama** 2002; 288:49-57.

Women's Health Initiative. Risk and benefits of Estrogen plus Progestin in healthy postmenopausal women. Principal results from the Women's health initiative randomized controlled trial. **Jama** 2002; 288: 321-333.

Montilla RNG, Marucci MFN & Aldrighi, JM. Avaliação do estado nutricional e do consumo alimentar de mulheres no climatério. **Rev. Assoc. Med. Bras.** 2003; 49: 91-95.

Mansur AP, Favareto D, Souza MFM de, Avakian SD, Aldrighi JM, César LAM & Ramires JAF. Trends in death from circulatory diseases in Brazil between 1979 and 1996. **Arq Bras Cardiol** 2001; 76: 504-10.

Beral V ; Banks E & Reeves G. Evidence from randomized clinical trials on the long-term effects of hormone replacement therapy. **Lancet** 2002; 360: 942-44.