

NÍVEIS SÉRICOS DE COLESTEROL EM AMOSTRA REPRESENTATIVA DA POPULAÇÃO ADULTA DE PORTO ALEGRE

BRUCE BARTHOLOW DUNCAN*, CARLA BERGER**, MARCELO LEONE S. SILVA**, SÉRGIO LUIZ BASSANESI***, ALOYSIO C. ACHUTTI****

Em 1978 o colesterol sérico foi medido em uma amostra aleatória de 234 homens e mulheres, representativa da população de Porto Alegre de 20 a 74 anos. A média do colesterol ajustada para a estrutura etária de Porto Alegre em 1980 e seu desvio padrão foram de 202,4 + 43,4 mg/dl. Este valor está significativamente acima da média ideal (160 mg/dl) e da média recomendada (190 mg/dl) adotadas pela OMS e não difere de forma significativa da média dos EUA. Não foram detectadas diferenças significativas entre homens e mulheres e entre as mulheres que usam

e as que não usam anticoncepcionais orais. Foi detectado um aumento consistente de colesterol médio com a idade. Tais dados são compatíveis com a mortalidade crescente pelas doenças ateroscleróticas em nosso meio e mostram a necessidade de novos estudos para caracterizar os níveis de colesterol da população brasileira. Os dados indicam que mais ênfase deve ser dada aos aspectos nutricionais preventivos das doenças cardiovasculares.

Arq. Bras. Cardiol. 51/5: 385-390—Novembro 1988

A hipercolesterolemia é um fator de risco comprovado para várias doenças ateroscleróticas, particularmente para a doença isquêmica do coração (DIC). Populações com baixos níveis de colesterol sérico, doravante denominado apenas colesterol, apresentam pouca manifestação clínica de DIC¹; populações com altos níveis têm DIC epidêmica. A mortalidade por DIC no Estado do Rio Grande do Sul está em ascensão constante. Entre 1970 e 1985 o coeficiente de mortalidade por DIC neste Estado aumentou de 52,30 para 81,83 óbitos para cada 100.000 habitantes, por ano, representando 12,6% de todas as causas de óbito em 1985. No mesmo período o coeficiente de mortalidade por todas as causas do aparelho circulatório aumentou de 184,1 para 230,3 óbitos para cada 100.000 habitantes, por ano, representando 35,0% de todas as causas de óbito em 1985²⁻⁵. Pode-se acrescentar também que o grupo das doenças cardiovasculares é responsável por 22,9% dos anos de vida perdidos por todas as causas de morte do Rio Grande do Sul. Por tudo isso, neste Estado este grupo de doenças é o mais importante como causa de óbito em anos recentes².

A figura 1 mostra as recomendações da OMS para os níveis de colesterol em populações. A distribuição do colesterol designada como ideal é representativa de uma série de populações rurais, pastoris, agrícolas ou pescadoras do Oriente e da bacia mediterrânea onde a média é 160 mg/dl. A distribuição das concentrações do colesterol na população dos Estados Unidos da América (EUA) na década de 70 é a distribuição mais a direita, com média de 210 mg/dl. Os peritos da OMS designaram uma distribuição intermediária, com média de 190 mg/dl, como um alvo factível para países industrializados. Países como a Iugoslávia, Grécia e Itália na década de 70 apresentaram distribuições perto da factível¹.

Estudos demonstram que é possível através de modificações dos hábitos dietéticos baixar o nível do colesterol em populações⁶⁻⁸. Peritos da OMS têm promovido recomendações quanto a estas modificações¹, enquanto que nos EUA⁹ e em vários países da Europa¹⁰ foram elaboradas e divulgadas recomendações específicas quanto aos níveis de colesterol desejáveis. Dados recenses coletados nos EUA⁶ indicam que estão ocor-

Trabalho realizado no Departamento de Medicina Preventiva, Saúde Pública e Medicina do Trabalho da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

* Professor Assistente, DMPSPMT-FM, UFRGS

** Acadêmico, Curso de Medicina, UFRGS

*** Técnico Científico da Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente—RS.

**** Professor Assistente, Depto Medicina Interna—FM, UFRGS.

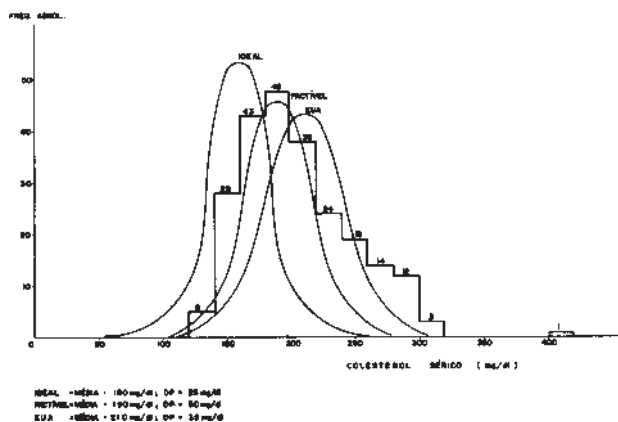


Fig. 1—Histograma da distribuição do colesterol sérico na amostra e curvas da distribuição nos EUA e das distribuições "ideal" e "factível" da OMS

rendo mudanças, a nível de população, nos hábitos relacionados com ingestão de gorduras e sugerem uma aproximação dos níveis de colesterol ao nível factível.

Pouco se sabe a respeito dos níveis do colesterol na população brasileira ou da América Latina. Uma revisão da literatura mostrou vários estudos sugerindo padrões para o Brasil^{11,12} e para outros países latino-americanos^{13,15} mas freqüentemente sem nenhuma descrição do processo de amostragem e, aparentemente em nenhum caso, com amostragem representativa de uma população livre e geograficamente delimitada.

Em vista da magnitude do problema da DIC e das reais possibilidades de redução deste dano pela redução dos níveis de colesterol da população, é importante conhecer-se a distribuição do colesterol em nosso meio. Com este objetivo este trabalho procurou caracterizar os níveis séricos do colesterol numa amostra representativa da população adulta de Porto Alegre. Com isto pretende-se contribuir para o planejamento das ações de saúde relacionadas ao controle da hipercolesterolemia.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Em 1978 uma equipe da Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul (SSMA-RS) e da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz fez um inquérito epidemiológico relacionado com a hipertensão arterial sistêmica e outros fatores de risco para doenças cardiovasculares^{16,17}. O estudo investigou uma amostra probabilística da população do Rio Grande do Sul entre 20 e 74 anos de idade. O esquema da amostragem foi desenvolvido pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para o Estudo Nacional de Despesa Familiar (ENDEF) que ocorreu quatro anos antes¹⁸. Para o ENDEF foram selecionados setores censitários de forma sistemática. Em cada um desses setores foram selecionados, por amostragem casual simples, dois subsectores e, finalmente, as residências foram selecionadas por amostragem sistemática. Para o inquérito de 1978, após listar todos os subsectores da amostra do ENDEF e após início casual, foram selecionados 50% daqueles

subsectores, por amostragem sistemática. Nestes subsectores foram estudadas as mesmas residências familiares da amostra do ENDEF. Em cada residência foram estudados os adultos de 20 a 74 anos de idade. O inquérito incluiu, entre outras variáveis, a determinação da idade, do sexo e uso ou não de anticoncepcionais orais (ACO). O colesterol também foi dosado numa subamostra da amostra deste inquérito. Esta subamostra consistiu de uma seleção sistemática de 146 domicílios situados em Porto Alegre. Foram encontrados habitados 121 destes domicílios. Houve recusa de participação de 4, tendo sido estudados portanto, 117 domicílios. Nestes domicílios foram encontrados 297 indivíduos de 20 a 74 anos de idade, dos quais 234 tiveram seu colesterol dosado. As perdas foram por recusas individuais, viagens, perda ou insuficiência de material coletado e outros motivos. O tamanho desta subamostra garante, com uma confiança superior a 95% que o nível médio do colesterol da população de Porto Alegre está dentro de um intervalo de confiança compreendido pelo nível médio do colesterol na subamostra ± 5 mg/dl de colesterol, assumindo-se que o desvio padrão do colesterol na população é igual ao dos EUA, ou seja 35mg/dl¹. As amostras de sangue venoso foram tomadas antes do jejum através de "Vacutainer" (B-D). O soro foi separado na mesma manhã da coleta. As dosagens do colesterol foram feitas no laboratório do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelo Dr. Sergio A. Goldani. O método de análise do colesterol foi o de Huang-Chen, modificado^{19,20}. Para a análise dos dados foi utilizado o Centro de Processamento de Dados da UFRGS e o programa estatístico SPSS Batch System. O nível de significância para os testes de hipóteses e intervalos de confiança foi de 5% (valor alfa = 0,05). Para os ajustamentos por estrutura etária foram utilizadas as populações masculina e feminina de 20 a 74 anos de idade de Porto Alegre em 1980 e a dos EUA em 1979.

RESULTADOS

As freqüências dos valores encontrados, por intervalos de classe do colesterol e de acordo com a idade, sexo e uso ou não de ACO, podem ser observadas na tabela I. A distribuição destas freqüências também pode ser observada na figura 1, na forma de um histograma. Nesta figura estão sobrepostas as curvas de distribuição ideal, factível e dos EUA. A idade média, o colesterol médio ajustado e o colesterol médio ajustado para a estrutura etária da população masculina e feminina de Porto Alegre em 1980 e seu intervalo de confiança, relativos a amostra e seus subgrupos, estão na tabela II.

A análise estatística destes dados indica que o colesterol médio ajustado da amostra (202,6 mg/dl) é significativamente diferente, isto é, maior que as médias ideal (160 mg/dl) e factível (190 mg/dl). Este

TABELA I—Frequência de indivíduos* nos diversos intervalos de classe de colesterol sérico, por idade, sexo e uso ou não de ACO, Porto Alegre, 1978.

Intervalos de classe do colesterol (mg/dl)	Faixas de Idade												T O T A L
	20—29			30—39			40—49			50—74			
	MASC	FEM		MASC	FEM		MASC	FEM		MASC	FEM		
	C/ ACO	S/ ACO		C/ ACO	S/ ACO		C/ ACO	S/ ACO		C/ ACO	S/ ACO		
100-160	10	3	4	4	3	2	3	0	4	0	0	0	33
161-190	8	2	11	6	4	2	9	0	4	9	0	3	58
191-250	8	2	5	7	4	11	6	3	17	17	1	21	102
250 +	2	1	1	2	0	3	6	2	6	2	0	9	34
Totais	28	8	21	19	11	18	24	5	31	28	1	33	227

* = Excluídas as grávidas; ACO = Anticoncepcionais orais; C/ACO = Em uso de anticoncepcionais orais; S/ACO = Não usando anticoncepcionais orais; MASC = masculino; FEM = feminino.

TABELA II—Média da idade e média e intervalo de confiança do colesterol da amostra, por sexo, gravidez, e uso ou não de ACO*, com e sem ajustamento para a estrutura etária de Porto Alegre, 1978.

Subgrupos	Nº de Casos	Idade Média	Colesterol Médio Não Ajustado	Colesterol Médio Ajustado**	Intervalo de Confiança Ajustado
Homens	99	40,5	199,5	196,4	188,3—204,5
Mulheres	135	40,9	210,4	207,6	200,0—215,2
Mulheres com ACO	25	32,0	193,7	204,4	189,1—219,7
Mulheres sem ACO	103	44,1	215,2	209,8	200,8—218,8
Grávidas	7	25,6	200,3	—***	—
Total da amostra	234	40,7	205,8	202,6	197,0—208,2

*: ACO = Anticoncepcionais orais **: Ajustamento para a estrutura etária e sexual de Porto Alegre de 1980; ***: Dados não calculados. A estrutura etária das grávidas de Porto Alegre não estão disponíveis.

colesterol médio ajustado sobe para 206,0 mg/dl quando o ajustamento é feito para a estrutura etária da população dos EUA em 1979. Nesta circunstância, não há diferença estatisticamente significativa entre o colesterol médio da amostra estudada e o da população dos EUA na década de 70 (210 mg/dl).

Sem ajustamento são observadas diferenças significativas entre o colesterol médio das mulheres que usam ACO e o das que não usam e o total da amostra. Estas

diferenças, porém deixam de ser significativas após o ajustamento do colesterol médio de cada subgrupo e de toda a amostra para a estrutura etária da população masculina e feminina de Porto Alegre em 1980. Ou seja, o tamanho da amostra, no que se refere aos subgrupos, não permitiu a detecção de diferenças significativas entre o colesterol médio de toda a amostra e dos subgrupos e destes entre si.

Na tabela III são apresentados a média e o desvio padrão do colesterol nos diversos subgrupos, agora discriminados por faixa de idade. O colesterol médio aumenta de forma consistente com o aumento da idade, tendendo a estabilizar nos homens após os quarenta anos de idade, o que também pode ser visto na figura 2.

As tabelas IV e V mostram os percentis do colesterol de acordo com o sexo e a idade.

DISCUSSÃO

A publicação destes dados minimiza a falta de dados representativos de uma população livre e geograficamente delimitada no Brasil. Aliás, existem poucos dados semelhantes para a América Latina. Assim estes resultados podem servir como padrão inicial para áreas urbanizadas do Rio Grande do Sul e áreas semelhantes do Brasil.

É inegável que o problema das doenças cardiovas-

TABELA III—Média de colesterol e seu desvio padrão, por idade, sexo e uso ou não de ACO*. Porto Alegre, 1978.**

Subgrupos	Faixas de Idade											
	20 - 29			30 - 39			40 - 49			50 - 74		
	Nº de casos	Col.* médio	Desvio padrão	Nº de casos	Col. médio	Desvio padrão	Nº de casos	Col. médio	Desvio padrão	Nº de casos	Col. médio	Desvio padrão
Homens	28	180,3	38,0	19	194,4	41,7	24	210,9	44,1	28	210,4	32,2
Mulheres	29	184,4	32,0	29	200,6	41,0	36	214,4	40,5	34	239,0	47,8
Mulheres com ACO	8	190,0	39,3	11	177,6	26,0	5	227,6	36,1	1	231,0	¾
Mulheres sem ACO	21	182,3	29,5	18	217,6	42,6	31	212,3	41,3	33	239,2	48,6
Total da amostra**	57	182,4	34,8	48	199,3	40,8	60	213,0	41,7	62	226,1	43,6

*: Col. = Colesterol sérico; **: Excluídas as grávidas; ***: ACO = Anticoncepcionais orais.

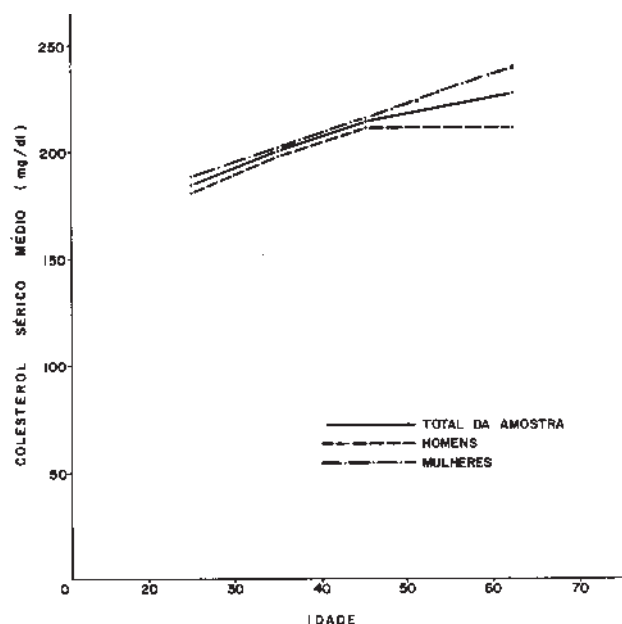


Fig. 2—Distribuição do colesterol sérico médio na amostra conforme sexo e idade. Porto Alegre, 1978.

TABELA IV—Valores dos 10°, 25°, 50°, 75° e 90° percentis do colesterol, por faixa etária, numa amostra da população masculina de Porto Alegre, 1978.

IDADE (anos)	N	PERCENTIS				
		10°	25°	50°	75°	90°
20—29	28	155	147	173	197	217
30—39	19	*	162	184	220	*
40 ou mais	52	169	180	200	231	265

* 10 e 90 percentis computados só quando N ≥ 25

TABELA V—Valores dos 10°, 25°, 50°, 75° e 90° percentis do colesterol, por faixa etária, numa amostra da população feminina de Porto Alegre, 1978.

IDADE (anos)	N	PERCENTIS				
		10°	25°	50°	75°	90°
20—29	29	154	161	180	192	220
30—39	29	146	168	192	224	251
40 ou mais	70	167	196	218	250	282

* 10 e 90 percentis computados só quando N ≥ 25

culares (DCV) está crescendo enormemente de importância em nosso meio. Isto pode ser constatado pelos indicadores de morbi-mortalidade disponíveis, alguns já citados na introdução. Atualmente as DCV são a mais importante causa de óbito no Rio Grande do Sul, sendo o infarto do miocárdio a causa específica mais freqüente². As diferenças internacionais de mortalidade DCV²⁶, a tendência decrescente em alguns países desenvolvidos²⁹ e ainda evidências advindas de estudos com migrantes (gens semelhantes mas diferentes ambientes)³¹ indicam que fatores ambientais, sociais e culturais são importantes elementos causais destas doenças. Estes fatos, e outros de caráter experimental

demonstram que é possível reverter a tendência crescente da morbi-mortalidade por DCV através de medidas preventivas^{26, 29}.

O colesterol, por sua vez, é um comprovado fator causal de DCV, especificamente das doenças ateroscleróticas. Pesquisas a nível de populações mostram que há uma nítida correlação entre o nível do colesterol médio da população e o coeficiente de mortalidade de DCV²⁵. Quanto mais baixo é o colesterol médio, menor é a morbi-mortalidade por DCV naquela população. É possível baixar o colesterol médio de uma população através de mudanças dietéticas, especialmente as referentes à diminuição da ingesta de gorduras saturadas de cadeia média e do próprio colesterol²⁵. As discussões em torno da prevenção das DCV, no entanto, têm girado apenas em torno da hipertensão arterial e do fumo. Raramente são mencionados os fatores nutricionais de risco para a doença isquêmica. Mesmo frente aos desníveis sociais, desnutrição e atraso no desenvolvimento social da América Latina, é importante falar-se na prevenção e tratamento das DCV. Ao contrário do que freqüentemente é afirmado, estas doenças e outras doenças crônicas são também doenças das classes sociais menos favorecidas e não doenças próprias da opulência. A prevalência da DCV e de uma série de outras doenças crônicas é maior nas populações de baixa renda. O mesmo ocorre com a prevalência dos fatores de risco para estas doenças que, via de regra são maiores nestas classes que nas classes mais altas^{27,28,30}. O inquérito de 1978, citado anteriormente e do qual deriva o presente trabalho, mensurou dezenas de variáveis relacionadas com a distribuição das DCV, especialmente com a hipertensão arterial. Aqui, porém, são analisadas apenas as variáveis: sexo, idade e uso ou não de ACO. Análises ou pesquisas subseqüentes poderão completar este estudo avaliando as relações do colesterol com outras variáveis como fumo, hipertensão arterial, diabete, obesidade e outros. Também poderão ser analisadas as relações com outros fatores causais mais complexos como as formas de consulta, as relações sociais de produção e classes sociais.

Na análise dos dados foi efetuado o ajustamento, pelo método direto, dos resultados para a estrutura etária da população de Porto Alegre em 1980. Este procedimento foi necessário porque a estrutura de idade da amostra e de seus subgrupos diferiu da estrutura de idade da população adulta dessa capital. Sem o ajustamento não seria possível extrapolar as conclusões. Na amostra a curva de distribuição das idades estava desviada para o lado das idades mais altas. Isto deveu-se ao fato que o número de indivíduos selecionados para o estudo e que puderam ser examinados foi maior nas faixas de idade menores. Os mais jovens foram mais difíceis de ser localizados durante o inquérito pois costumam apresentar maior mobilidade. Com o ajustamento, a diferença etária ficou eliminada e tornou possível a comparação entre os diversos sub-

ventive nutritional factors. In fact, the population distribution of serum cholesterol is unknown. In 1978, serum cholesterol was measured in a random sample of 234 men and women representative of the population of Porto Alegre between 20 and 74 years of age. The adjusted mean and standard deviation for serum cholesterol were 202.4 ± 43.4 mg/dl. The population mean is significantly above the ideal (160 mg/dl) and recommended (190 mg/dl) means adopted by the World Health Organization and does not differ significantly from the mean of the population of the United States. Significant differences between men and women, and between women users and non-users of oral contraceptives were not encountered. Mean cholesterol levels augmented with age. Such data are compatible with rising mortality from atherosclerotic diseases in Rio Grande do Sul, and demonstrate the necessity of new studies to better characterize Brazilian population levels of serum cholesterol. The data suggest that greater emphasis should be placed on nutritional aspects of the prevention of cardiovascular disease.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization—Prevention of Coronary Heart Disease: Report of a WHO Expert Committee, Geneva, WHO technical Report Series 678, 1982.
- Achutti AC, Medeiros AMB, Bodanese LC et al—Epidemiologia das doenças cardiovasculares no Rio Grande do Sul. Cadernos Científicos da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul, 1: 3, 1984.
- Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul, Unidade de Informática—Estatísticas de Saúde: Mortalidade. Porto Alegre, 1985. Vol 9.
- Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul, Unidade de Informática—Estatísticas de Saúde: Mortalidade. Porto Alegre, 1986. Vol 10.
- Secretaria da Saúde e do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul, Unidade de Informática—Estatísticas de Saúde: Mortalidade. Porto Alegre, 1986. Vol 11.
- Stamler J, Liu K—The benefits of prevention. In Kaplan NM, Stamler J—Prevention of Coronary Heart Disease, Practical Management of Risk Factors. Philadelphia, WB Saunders 1983. p.188.
- World Health Organization—Community Prevention and Control of Cardiovascular Diseases: Report of a WHO Expert Committee, Geneva, WHO Technical Report Series 732, 1986.
- Lewis B, Mann JI, Mancini M—Reducing the risk of coronary heart disease in individuals and in population. Lancet, 1: 956, 1986.
- National Institutes of Health—Consensus Development Conference Statement, Lowering Blood Cholesterol to Prevent Heart Disease. Washington, Department of Health and Human Services, 1985. Vol 5, n 7.
- Study Group, European Atherosclerosis Society—Strategy for Prevention of Coronary Heart Disease: a Policy Statement for the European Atherosclerosis Society. Eur Heart J, 8: 77, 1987.
- Filho HP—Hiperlipoproteinemias. Folha Médica, 64: 1, 1982.
- Rouquayrol MZ, Veras FMP, Gomes ILP, Bezerra FAF, Viana MM, Bezerra RCF—Colesterol sérico associado a categoria social. CNPq, 2: 6, 1985.
- Arteaga A, Maiz A, Donoso V, Aravena M, Acosta AM—El colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) del suero, en una población de hombres asintomáticos en Santiago de Chile. Rev Med Chile, 111: 115, 1983.
- Morales J, Trujillo ML, Abregú AU et al—Investigación de los valores de colesterol de y la relación con el colesterol total en adultos de ambos sexos en San Miguel de Tucuman. Acta Bioquímica Latinoamericana, 27: 81, 1983.
- Tejada AL, Briones E, Fuentes J, Alvarado C—Percentiles de lípidos séricos. Rev Med Hosp General de Mexico, 45: 43, 1982.
- Achutti AC, Medeiros AMB, Azambuja MIR et al—Hipertensão arterial no Rio Grande do Sul. Boletim da Saúde, SSMA-RS, 12: 6, 1985.
- Costa EA—A cross sectional survey of blood pressure in Rio Grande do Sul, with special reference to the role of salt. Londres, (Tese, London School of Hygiene and Tropical Medicine), 1981.
- IBGE—Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística—Metodologia da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios na Década de 70. Rio de Janeiro, IBGE, 1981. Séries Relatórios Metodológicos. Vol 1.
- Huang C, Chen CP, Wefler V et al—”A stable reagent for the Liebermann-Durchard reaction”.
- Technicon Auto Analyser Methodology N—77 I/II, Cholesterol (Direct). Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, New York, 1970.
- Divisão Nacional de Doenças Crônicas-Degenerativas—Bases Estratégicas e Operacionais. Brasília, Ministério da Saúde 1986. (mimeo).
- IBGE—Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística—Anuário Estatístico do Brasil, Rio de Janeiro, IBGE, 1984. Vol 45, p.231.
- National Institutes of Health—The Lipid Research Clinics, Population Studies Data Book, Vol 1—The Prevalence Study, Aggregate Distributions of Lipids, Lipoproteins and Selected Variables in II North American Populations. Bethesda MD, Department of Health and Human Services, (NIH Publication n. 80-1527), 1980. p. 28.
- Abramowicz M—Serum cholesterol determinations. Medical letter. Drugs Therapeutics, 29: 41, 1987.
- Fraser GE—Preventive Cardiology. New York, Oxford University Press, 1986.
- Keys A—Coronary heart disease in seven countries. Circulation, 41 (suppl 1): 1, 1970.
- Rose GA, Marmot MG—Social class and coronary heart disease. Br Heart J, 45: 13, 1981.
- Klein CH, Leal MC, Barata PR, Costa EA—Socio-Economic Variables and Blood Pressure in Rio Grande do Sul, Brasil, 1978. Abstracts of the IX Scientific Meeting—International Epidemiological Association, Escócia, 1981.
- Levy RI—Declining mortality in coronary heart disease. Arteriosclerosis, 1: 312, 1981.
- Organização Panamericana da Saúde—Estudo sobre Fatores de Risco para Doenças não Transmissíveis em Porto Alegre. Dados preliminares, 1987 (mimeo).
- Kagan A, Harris BR, Winkelstein W et al—Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: demographic, physical, dietary and biochemical characteristics. J Chron Dis, 27: 345, 1974.
- Lipid Research Clinics Program. Manual of Laboratory Operations. Vol 1—Lipid and Lipoprotein analysis. DHEW publication number (NIH) 75-628, Bethesda, National Institutes of Health, 1974.