UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
MILCIA ALMEIDA ZAIDAN

# COMPARAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS, DE ADIPOSIDADE E DE RESISTÊNCIA À INSULINA ENTRE CRIANÇAS OBESAS E EUTRÓFICAS INTEGRANTES DA COORTE BRASIL SUL

Palhoça
2018

**MILCIA ALMEIDA ZAIDAN**

# COMPARAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS, CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS, DE ADIPOSIDADE E DE RESISTÊNCIA À INSULINA ENTRE CRIANÇAS OBESAS E EUTRÓFICAS INTEGRANTES DA COORTE BRASIL SUL

**LINHA DE PESQUISA: INVESTIGAÇÃO DE AGRAVOS CRÔNICOS À SAÚDE**

Projeto de Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Anna Paula Piovezan, Dra.

Palhoça

2018

Z24 Zaidan, Milcia Almeida, 1955-
Comparação de marcadores inflamatórios, características metabólicas, de adiposidade e de resistência à insulina entre crianças obesas e eutróficas integrantes da Coorte Brasil Sul / Milcia Almeida Zaidan. – 2018.
67 f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Sul de Santa Catarina, Pós-graduação em Ciências da Saúde.
Orientação: Prof. Dra. Anna Paula Piovezan

1. Inflamação. 2. Obesidade nas crianças. 3. Obesidade em adolescentes. 4. Tecido adiposo. I. Piovezan, Anna Paula. II. Universidade do Sul de Santa Catarina. III. Título.

CDD (21. ed.) 616.0473

Ficha catalográfica elaborada por Carolini da Rocha CRB 14/1215

UNISUL
UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - MESTRADO**

Título da Dissertação

Comparação de marcadores inflamatórios, características metabólicas, de adiposidade e de resistência à insulina entre crianças obesas e eutróficas integrantes da Coorte Brasil Sul

**MILCIA ALMEIDA ZAIDAN**
AUTOR

Aprovada pela Banca Avaliadora de Defesa da Dissertação em 26 de fevereiro de 2018.

Doutora Anna Paula Piovezan (orientador) _____

Doutora Jane Laner Cardoso (avaliador externo) _____

Doutora Clarissa Martinelli Comim (avaliador interno) _____

*Professor Doutor Jefferson Traebert*
**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - UNISUL**

**Agradecimentos**

Agradeço a todos os familiares, colegas e amigos que me incentivaram a fazer este trabalho, especialmente à minha mãe e minha filha Rejane.
Agradeço também à minha orientadora que não me deixou desistir e às crianças que participaram do estudo

## RESUMO

I**ntrodução**: A obesidade tornou-se um crescente problema de saúde pública mundial e cada vez mais está sendo identificada em fases precoces da vida. Está relacionada com características inflamatórias tanto em sua gênese quanto em sua manutenção, o que a longo prazo pode originar várias comorbidades, como a síndrome metabólica, diabetes tipo 2 e alterações cardiocirculatórias entre outras, todas associadas à piora da qualidade de vida. Identificar quando estas alterações se iniciam e como se apresentam pode ajudar na prevenção e no manejo da doença. **Objetivo**: comparar marcadores inflamatórios, metabólicos, de características de adiposidade e de resistência à insulina entre escolares de 8 anos de idade eutróficos e obesos. **Método**: estudo clínico-laboratorial envolvendo crianças de 8 anos, com delineamento exploratório para comparação da média de diferentes parâmetros (circunferência abdominal, prega tricipital, glicemia de jejum, insulinemia de jejum, índice Homa-ir, colesterol total e HDL-c, triglicerídeos, IL-6, IL-1$\beta$, IL-10, FNT-$\alpha$). Entre crianças examinadas nas escolas de Palhoça, foram selecionadas por conveniência 34 para compor os grupos de eutróficos (P<85) e obesos (P>97), baseado no IMC calculado. Coletou-se sangue destas crianças e procedeu-se às dosagens. Os dados foram analisados utilizando-se *software Graf Pad Prism,* versão 6.0. Foi usado teste t de student (resultados como média ± EPM) e Wilcoxon e Mann-Witney (resultados em mediana – intervalo interquartil). O intervalo de confiança foi definido em 0,95 (95%).**Resultados**: IMC, CA e PTC, insulina de jejum e PCR-us foram significativamente aumentados no grupo dos obesos. IL-6, IL-10, IL-1$\beta$, FNT-$\alpha$,HDL, TG, índice Homa-ir e glicemia de jejum não mostraram alterações significativas entre os grupos. **Conclusão**: as crianças obesas de 8 anos do nosso estudo já apresentam alterações antropométricas, de insulina e de PCR-us que denotam um processo inflamatório de baixo grau e alterações iniciais relativas a risco cardiovascular futuro.



Descritores: criança, adolescente, obesidade, marcadores inflamatórios, síndrome metabólica, tecido adiposo.

## ABSTRACT

**Introduction**: Obesity has become a growing public health concern around the world and has been more and more identified in early stages of life. It is interlinked with inflammatory responses such on it's genesis as on it's maintenance, which on long term can lead to many cardio-metabolic comorbidities, diabetes and others, all of them improving a lower quality of life.**Objective**: to compare inflammatory, metabolic, adiposity characteristics and insulin resistance markers between eutrophic and obese schoolers of 8 years old. **Method**: clinic-laboratory study involving 8 years' old children, with exploratory lining to compare the average of many parameters (waist circumference, tricipital fold, fasting glucose, fasting insulin, Homa – IR index, total cholesterol and HDL-c, triglycerides, IL-6, IL-1$\beta$, IL-10, FNT-$\alpha$ and adiponectin. Among the children weighted and measured at schools in Palhoça-SC, there were 34 selected to compose the eutrophic's and obese's groups based on calculed BMI. There were collected and processed blood samples from these children to get the dosages. The data were analyzed using Graf Pad prism's software 6.0. The Student T Test (results as mean ± SDP) and Wilcox & Mann-Witney (results as median ± interquartile range) were used. **Results:** BMI, WC, TCF, RCP-hs and fasting insulin were significant higher in obesity group. IL-6, IL-10, IL-1$\beta$, FNT-$\alpha$,HDL, TG, Homa-ir index and fasting glucose didn't show differences. **Conclusion**: Our group of obese children aged 8 years shows disturbances in anthropometric characteristics, fasting insulin and CRP-hs levels that indicate a low grade inflammatory process and consequent cardio-vascular risk in the future.



Keywords: children, adolescents, obesity, inflammatory markers, metabolic syndrome, Adipose tissue

## LISTAS

Lista de abreviaturas

AGT – Angiotensinogênio
ALT – Alanina aminotransferase
ASP – Proteína estimulante da acilação
AST – Aspartato aminotransferase
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
DGAT – Diacil glicerol -3- fosfato
DHGNA – Doença hepática gordurosa não alcoólica
DCV – Doença cárdio vascular
Gama-GT – Gama glutamil transpeptidase
GLUT-4 – Transportador de glicose 4
HbA1c – Hemoglobina glicada
HDL – c - lipoproteína de alta densidade – colesterol
HOMA-ir - do inglês *homeostasis model assessment insulin resistence*
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH-M - Índice de Desenvolvimento Humano Municipal
IMC - Índice de Massa Corpórea
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC - Índice de Massa Corpórea
IR – Insulino resistência
IRS -1 – Substrato 1 do receptor de insulina
LDL – c – lipoproteína de baixa densidade – colesterol
LPL – Lipoproteína lipase
OMS - Organização Mundial de Saúde
PCR –us – Proteína C reativa ultrassensível
PCT – Prega tricipital
PPGCS - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
RI – Resistência insulínica
ROS – do inglês *Reative oxidative species*
SAA – Proteína sérum amiloide

SAOS – Síndrome da apneia obstrutiva do sono
SUS - Sistema Único de Saúde
TA – Tecido adiposo
TAB – Tecido adiposo branco
TAG - Triacilgliceróis
TAM – Tecido adiposo marrom
TALE – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TASC – Tecido adiposo subcutâneo
TAV – Tecido adiposo visceral
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG - Triglicerídeos
VLDL-c – Lipoproteina de muito baixa densidade – colesterol
UNISUL - Universidade do Sul de Santa Catarina

Lista de quadros

Quadro 1 - Pontos de corte de IMC idade para crianças maiores de 5 anos ..... 16
Quadro 2 - Percentis da dobra cutânea tricipital..... 19
Quadro 3 - Valores de circunferência abdominal em cm – percentil 90 ..... 19
Quadro 4 - *Screening* de exames para crianças com excesso de peso..... 20
Quadro 5 - Outras adipocinas e suas características no excesso de peso ..... 27
Quadro 6 - Parâmetros considerados..... 35
Quadro 7 - Variáveis do estudo..... 42

Lista de figuras

Figura 1 - Gráfico de IMC por idade para meninas de 5 a 19 anos..... 17
Figura 2 - Gráfico de IMC por idade para meninos de 5 a 19 anos..... 17
Figura 3 –. Rebote da adiposidade.. ..... 22
Figura 4 - Alterações de celularidade do tecido adiposo na obesidade..... 23
Figura 5 - Mecanismos de resistência à insulina induzidos pela inflamação..... 30
Figura 6 - Desenho esquemático das diferentes etapas do estudo..... 38

Lista de tabelas

Tabela 1 – Características das crianças avaliadas no estudo..... 44

Tabela 2 – Características antropométricas, inflamatórias e metabólicas das crianças avaliadas no estudo..... 45

Tabela 3 – Variação nas concentrações séricas de interleucinas e TNF-$\alpha$ nas amostras analisadas no estudo..... 46

**SUMÁRIO**

**1. INTRODUÇÂO**..... 12
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO..... 14
**1.1.1 Obesidade**..... 14
**1.1.2 O tecido adiposo e a inflamação**..... 26
**1.1.3 Morbidades associadas à obesidade**..... 28
1.1.3.1 Crianças obesas e marcadores inflamatórios..... 33
**2. OBJETIVOS**..... 34
2.1 OBJETIVO GERAL..... 34
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 34
**3. MÉTODOS**..... 35
3.1 TIPO DE ESTUDO..... 35
3.2 POPULAÇÃO, LOCAL, TEMPO E AMOSTRA..... 35
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO..... 37
3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO..... 37
3.5 COLETA DE DADOS..... 37
**3.5.1 Materiais e equipamento**..... 38
3.6 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICAS..... 38
**3.6.1 Medidas antropométricas.**..... 39
**3.6.2 Coleta de sangue.**..... 40
**3.6.3 Determinação dos níveis dos marcadores inflamatórios e outras substancias no sangue**..... 40
3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO..... 42
3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS..... 43
3.9 ASPECTOS ÉTICOS..... 43
**4. RESULTADOS**..... 44
5. **DISCUSSÃO.**..... 47
6. **CONCLUSÕES**..... 51
**REFERÊNCIAS**..... 52
**APÊNDICES**..... 60

**APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**..... 60
**APÊNDICE B - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido**..... 63
**APÊNDICE C – Formulário do Sujeito da Pesquisa**..... 66
**ANEXOS** ..... 67
**Anexo A – Comprovante de aprovação do projeto pelo CEP-UNISUI**..... 67

# 1. INTRODUÇÃO

A obesidade, que é definida como acúmulo excessivo de gordura corporal, vem se firmando como um problema de saúde pública global e cada vez mais está sendo identificada em fases precoces da vida. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que em 2014 haveriam 41 milhões de crianças menores de 5 anos com sobrepeso ou obesidade[1]. O mais recente comunicado da mesma OMS cita que em 2016 o numero de crianças e adolescentes obesos, entre 5 e 19 anos, chegou a 134 milhões em todo o mundo[2] .Esta aceleração no ganho de peso tem múltiplas causas, algumas genéticas, outras ambientais. Embora haja obesidade decorrente de alteração de genes únicos, na maioria das vezes ocorre o envolvimento de muitos deles, sabendo-se que mais de 250 genes, marcadores e regiões cromossômicas estão associadas à obesidade[3]. Além disso, vários fatores ambientais são capazes, por mecanismos epigenéticos, de alterar, ativando ou silenciando genes relacionados à patogênese da obesidade. Estes fatores podem agir de forma importante antes da concepção, durante o período da gestação e nos primeiros anos de vida, modulando a expressão destes genes[4].

Este conhecimento nos permite considerar que a obesidade esteja relacionada à dotação genética do indivíduo, mas sendo influenciada por variações ambientais (que são mais rapidamente mutáveis), de forma compatível com as ideias que fundamentam tanto a Teoria de Barker[5], quanto a Teoria do Curso de Vida[6] e a Teoria das Causas Fundamentais[7], nas quais se baseiam o presente estudo e o estudo da Coorte Brasil Sul, ao qual esta proposta está vinculada.

A obesidade pode ter origem endógena (em até 5% dos casos) ou exógena (nos restantes 95%) neste caso mais relacionada ao ambiente obesogênico em que vivemos, sendo atualmente reconhecida como uma doença inflamatória[8]. Este fato se verifica na medida em que durante esta condição encontra-se maior expressão de adipocinas pró- inflamatórias como a interleucina 6 (IL-6), o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α)[9], a adipsina, o angiotensinogênio, a leptina[10], a resistina , a visfatina[11] e o fator quimiotáxico de macrófagos (MCP-1)[12]. Contrariamente a estas primeiras, é registrada uma menor expressão de adipocinas anti-inflamatórias como a IL-10, e a adiponectina[10] . As citocinas pró inflamatórias, secretadas pelo tecido adiposo mantêm

um estado de baixo grau de inflamação crônica, o que se relaciona com alterações na resistência à insulina, ao diabetes, à dislipidemia, à hipertensão arterial, à aterogênese e então à síndrome metabólica já possivelmente evidenciáveis desde a infância[13,14].

A descoberta das implicações da inflamação na gênese da obesidade e na sua manutenção, assim como o círculo vicioso que se estabelece entre o aumento da obesidade e dos componentes inflamatórios levando a longo prazo às alterações que originam as comorbidades associadas a ela, são relativamente recentes e muitos passos nesta cadeia de eventos ainda não estão bem estabelecidos[8].

A obesidade pode ocorrer em qualquer etapa da vida, mas a cada dia se torna mais evidente que seu desenvolvimento se inicia na infância e adolescência[4,15 16], sendo que muitos trabalhos demonstram que o tecido adiposo modula a liberação de mediadores pró e anti-inflamatórios [13]. Enquanto em adultos estas relações estão bem estabelecidas, são poucos os trabalhos com esta abordagem em crianças o que torna importante a oportunidade de estudá-las, uma vez que também não se conhece em que período da vida as alterações inflamatórias se iniciam, e que, quanto antes se puder reconhecê-las mais precocemente poderemos iniciar a prevenção ao desfecho, e mais eficaz esta poderá ser.

Deve-se salientar ainda, que esta é uma faixa etária que apresenta vantagens de ser estudada no sentido de haver menos fatores de confusão ambientais, como hábito de fumar ou presença de outras doenças inflamatórias como a artrite por exemplo[17].

Alguns trabalhos com crianças e adolescentes já demonstraram a existência de alterações em relação aos marcadores inflamatórios, mas poucos trabalharam com crianças na faixa etária que será avaliada no presente estudo. Assim, nosso trabalho visa comparar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, características metabólicas de adiposidade e de resistência à insulina entre grupos de crianças obesas e eutróficas, integrantes da Coorte Brasil Sul (nascidas em 2009), agora com 8 anos.

REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1.1 Obesidade

A obesidade vem crescendo de forma epidêmica em todo o mundo. A Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou em junho de 2016, que em 2014 quase 2 bilhões de pessoas no mundo apresentavam sobrepeso e que 600 milhões eram obesos. Deste total, 41 milhões de crianças menores de 5 anos apresentavam sobrepeso ou obesidade[1,18]. Em novo comunicado em 2017, a mesma OMS declara que o número de crianças e adolescentes obesos com idade entre 5 -19 anos aumentou 10 vezes nas ultimas 4 décadas, passando de 11 milhões em 1975 a 134 milhões em 2016 [2]. Nos Estados Unidos da América (EUA) as tendências de obesidade mostraram aumento entre as pesquisas de 1988-1994 e 2013-2014, com diferenças nos tempos e faixas de idade[18]. Em crianças de 2 a 5 anos aumentou até 2003-2004 e em seguida diminuiu. Em crianças de 6 a 11 anos aumentou até 2007-2008 e depois estabilizou, e em crianças de 12 a 19 anos aumentou até 2014[19].

Na América Latina estes valores também são importantes e estimou-se ,em 2014, que 7,0% das crianças menores de 5 anos de idade (3,8 milhões) tivessem sobrepeso ou obesidade[20]. Entre as crianças em idade escolar (6 a 11 anos), as taxas variam entre 15,0% no Peru a 34,4% no México sendo que entre os adolescentes (12 a 19 anos), variam de 17,0% na Colômbia a 35,0% no México[20]. Estes achados estão em acordo com os encontrados no Brasil, onde também se verificou um grande aumento tanto para o sobrepeso quanto para obesidade, em crianças e adolescentes de ambos os sexos quando se comparam dados de 1975, 1989, 2002-2003 e 2008-2009. Os últimos dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares do IBGE, de 2008-2009, publicados em 2010, mostraram prevalência de sobrepeso + obesidade de 51,4% (34,8+16,6) para meninos entre 5 a 9 anos e 43,8% (32,0+11,8) para meninas neste grupo etário[21,22].

Alguns estudos, em diferentes regiões do Brasil, usando bases populacionais variadas apresentam prevalências grandes de sobrepeso e obesidade. Panazzolo e colaboradores estudaram crianças entre 6 e 10 anos no município de Feliz-RS e encontraram prevalência de sobrepeso de 15,4% e obesidade de 15,9%. Esta prevalência foi maior nas crianças de 5 e 7 anos (23,3%) quando comparadas as de 9 a 10 anos (8,3% - $p<0,001$). Não houve diferença significativa entre os sexos nos

valores totais de sobrepeso e obesidade. Houve maior prevalência de obesidade entre os meninos da área rural (22,7%) comparados aos meninos da área urbana (13,6%)[23]. Ronque e colaboradores, em 2007 estudaram escolares de alto nível sócio econômico em Londrina-PR e acharam prevalência de sobrepeso + obesidade de 31,6% (15,8+15,7) em meninas e de 38,9% (25,0 + 13,9) em meninos[24]. Silva e colaboradores publicaram em 2005 estudo de crianças que frequentavam um programa sócio educativo na zona oeste de SP e acharam uma prevalência total de sobrepeso e obesidade de 14% na faixa de 5 a 9 anos[25]. Melzer e colaboradores estudaram crianças em Santos -SP e identificaram 14,1% de sobrepeso + obesidade em crianças de 3 a 4 anos[26]. Oliveira e colaboradores, em Feira de Santana-BA, encontraram prevalência de obesidade de 4,4% entre crianças de 5 a 9 anos, sem diferenças relativas ao gênero[27]. Cardoso LJ em 2014 estudou 2 grupos de escolares de Florianópolis-SC , com 6-7 e 9-10 anos de idade (1082 crianças) e apurou percentual de sobrepeso + obesidade em 42,5% delas.[28]

Rosa LCD e colaboradores, em 2017 estudaram crianças de 7 anos de idade de escolas públicas e privadas de Palhoça-SC e encontraram prevalência de 33,2% de sobrepeso + de obesidade entre estas crianças[29].

As crianças que constituem o objeto de interesse do nosso projeto, integram um projeto maior, denominado Coorte Brasil Sul, que objetiva estudar as influências pré e pós-natais em várias áreas da saúde das crianças nascidas em 2009, moradoras no Município de Palhoça SC, e possíveis efeitos em sua vida futura. Esta coorte utiliza referenciais de 3 teorias conhecidas como: 1- Hipótese de Barker[5]; 2- Teoria do curso de vida[6] e 3- Teoria das causas fundamentais[7].

A Teoria de Barker sustenta que eventos ocorridos no período gestacional e/ou no início da vida teriam efeito a longo prazo sobre ocorrência de doenças crônicas. Mais autores apoiam a ideia de uma origem desenvolvimental da saúde e da doença, onde a nutrição, composição corporal e os níveis de hormônios maternos dariam sinais para o bebê, influenciando seu fenótipo metabólico e em consequência disto, os riscos para doenças crônicas não transmissíveis[4,30-31].

Este conceito da plasticidade do desenvolvimento concorda com a ocorrência destas modificações em ambientes nutricionais de desnutrição, tanto por sua falta, quanto por seu excesso, assim como ocorre no diabetes gestacional e na obesidade materna[32]. Por sua vez, a Teoria do Curso de Vida fundamenta-se no acúmulo de riscos durante a vida e, sem contradizer a teoria de Baker, acrescenta mais fatores de

ordem social, cultural e nutricional, a este indivíduo[6] que já poderia ter ou não um fenótipo obesogênico e então aumentar sua chance de desenvolver doenças crônicas na vida adulta[6]. Finalmente, a Teoria das Causas Fundamentais agrega a este quadro já descrito, as questões sócio econômicas que podem agir mantendo ou alterando os fatores de risco ou proteção[7], que, no caso da obesidade poderia significar um desfecho modificado pela possibilidade de uma alimentação adequada e vida mais ativa com exercícios e lazer compatíveis com o desenvolvimento em cada idade[26].

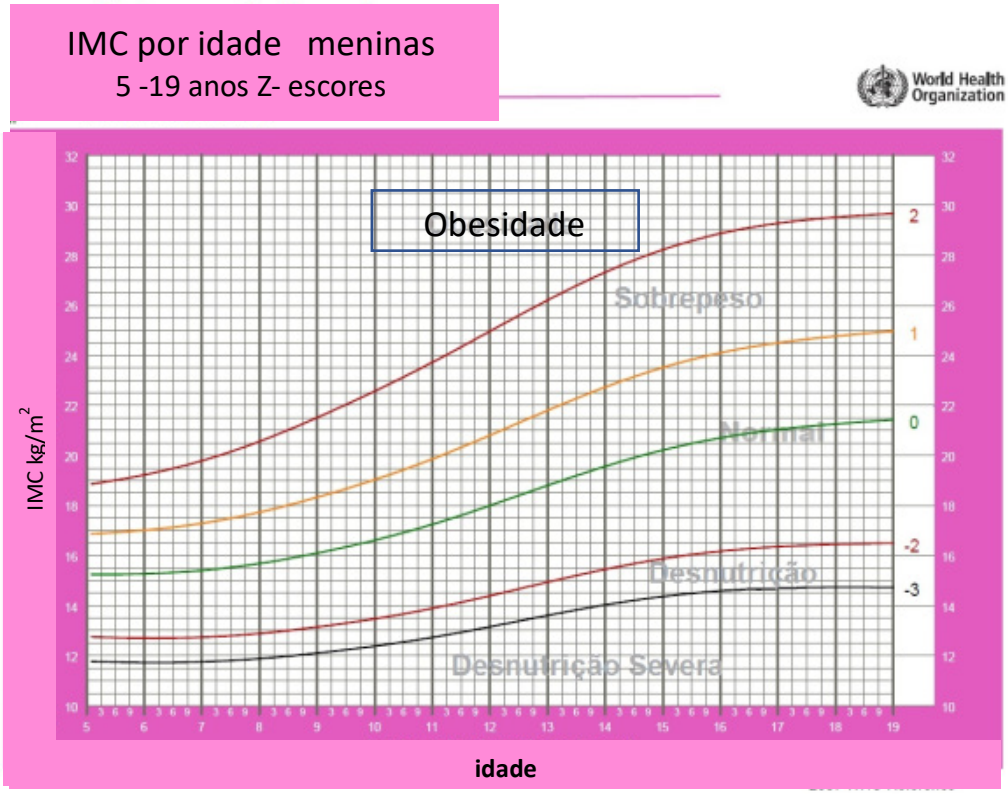
O diagnóstico da obesidade é clínico e basicamente orientado pelo Índice de Massa Corporal (IMC), padrão utilizado pela OMS e seguido no Brasil[33], calculado dividindo-se o peso do indivíduo (em kg) pelo quadrado de sua estatura (em metros). É considerado obeso o adulto com IMC ≥30kg/m²[33]. Em crianças, o cálculo é feito da mesma forma e seu resultado plotado em curvas de Z-scores ou percentis de IMC, desenvolvidas pela OMS, onde se consideram, além do índice em si, a idade e sexo da criança (Figuras 1 e 2). Crianças com idade menor que 5 anos são consideradas em risco de sobrepeso quando apresentam IMC entre 1 e 2 desvios padrão (DP) da média ou percentil entre 85 a 97; são consideradas em sobrepeso quando apresentam IMC entre 2 e 3 DP da média ou percentis de 97 a 99,9; e são considerados obesos aqueles com IMC superior a 3DP da média ou percentil superior a 99,9 para idade e sexo. Em crianças com idade superior a 5 anos a classificação elimina a faixa de risco de sobrepeso e considera em sobrepeso aquelas crianças que apresentam IMC entre 1 e 2 DP da média (percentil entre 85 e 97), obesos quem apresenta IMC entre 2 e 3 DP (percentil entre 97 e 99,8) e extremamente obesos aqueles com IMC superior a 3 DP da média (percentil superior a 99,9)[33] como pode ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 – Pontos de corte de IMC por idade para crianças maiores de 5 anos.

| **Valores críticos** | | **Diagnóstico nutricional** |
|---|---|---|
| <Percentil 3 | <Escore-z -2 | Baixo IMC para a idade |
| ≥Percentil 3 e <Percentil 85 | ≥Escore-z -2 e <Escore-z +1 | IMC adequado ou eutrófico |
| ≥Percentil 85 e <Percentil 97 | ≥Escore-z +1 e <Escore-z +2 | Sobrepeso |
| ≥Percentil 97 | ≥Escore-z +2 | Obesidade |

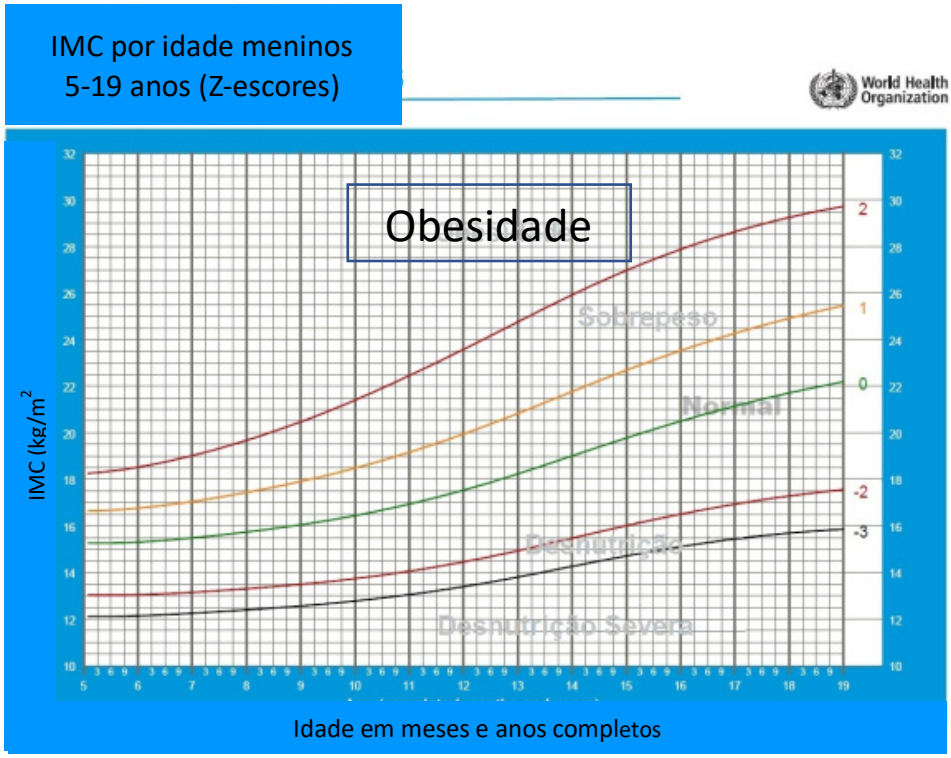
Fonte: Ministério da Saúde, 2014[33]

Figura 1 - Gráfico de IMC por idade para meninas de 5 a 19 anos.




Fonte: OMS 2007.

Figura 2 - Gráfico de IMC por idade para meninos de 5 a 19 anos.




Fonte: OMS 2007

Como a obesidade é um excesso da gordura corporal, para aumentar a acurácia do diagnóstico, além das medidas de peso e estatura, é necessário avaliar a composição corporal (percentual de massa gorda e de massa magra).

A avaliação da composição corporal pode ser feita através de várias técnicas. Estas podem ser indiretas, que são a absorciometria radiológica de dupla energia (DEXA), a tomografia computadorizada e a ressonância magnética, além das técnicas duplamente indiretas como a bioimpedância e a antropometria. As técnicas indiretas apresentam boa precisão, mas têm alto custo e protocolos mais complexos, que dificultam seu uso em estudos populacionais, além de doses de radiação e inadequação para crianças. As técnicas duplamente indiretas são menos rigorosas, porém apresentam melhor aplicação prática e menor custo, podendo ser empregadas tanto em pesquisas de campo quantos em estudos clínicos. Neste grupo, com destaque para as análises de antropometria, incluem-se as pregas cutâneas, as medidas de perímetros (circunferência da cintura, relação cintura/quadril), o índice de conicidade e a relação cintura/estatura[34].

A OMS considera a aferição da prega cutânea tricipital (PCT) como complemento do peso e estatura na avaliação da adiposidade que é diagnosticada como excessiva quando os valores estão acima do percentil 90 para sexo e idade[35] (Quadro 2). Outra medida importante é a da circunferência abdominal, que serve como avaliação indireta da gordura visceral[36] (Quadro 3). Em adultos a distribuição da gordura corporal de forma ginecóide ou andróide tem uma relação direta com os riscos cardiovasculares, o que não é tão evidente nas crianças. Mesmo assim, Freedman e colaboradores estudaram a circunferência abdominal e plotaram suas medidas em curvas para idade e sexo, concluindo que crianças que tinham circunferência abdominal maiores, acima do percentil 90 para sua idade e sexo, tinham também concentrações maiores de lipoproteína de baixa densidade-colesterol (LDL-c -17 mmol/L), triacilglicerol (TAG, 0,11 mmol/L) e insulina (6 mmol/L) e concentrações mais baixas de lipoproteína de alta densidade – colesterol (HDL-c 0,07 mmol/L) do que crianças com medida de circunferência abdominal menores, classificadas no percentil 10. Estas diferenças independeram de peso e estatura e tiveram significância de 0,001, além de terem tido consistência entre raças e sexo[36].

Quadro 2 – Percentis da dobra cutânea tricipital (mm) de crianças e adolescentes, segundo idade e sexo.

| Idade (anos) | Masculino | | | | | Feminino | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **P5** | **P15** | **P50** | **P85** | **P95** | **P5** | **P15** | **P50** | **P85** | **P95** |
| 1 | 6,5 | 7,5 | 10,0 | 13,0 | 16,0 | 6,0 | 7,5 | 10,5 | 12,5 | 16,5 |
| 2 | 6,0 | 7,0 | 10,0 | 13,0 | 15,5 | 6,0 | 7,5 | 10,5 | 13,5 | 16,0 |
| 3 | 6,5 | 7,5 | 9,5 | 12,5 | 15,0 | 6,0 | 7,0 | 10,0 | 13,5 | 16,5 |
| 4 | 6,0 | 7,0 | 9,0 | 12,0 | 15,0 | 6,0 | 7,5 | 10,0 | 12,5 | 15,5 |
| 5 | 5,5 | 6,5 | 8,0 | 11,5 | 15,0 | 6,0 | 7,5 | 10,5 | 13,0 | 16,0 |
| 6 | 5,0 | 6,0 | 8,0 | 12,0 | 14,5 | 6,0 | 7,5 | 10,0 | 14,0 | 18,5 |
| 7 | 5,0 | 6,0 | 8,5 | 12,0 | 17,5 | 6,0 | 7,5 | 10,5 | 14,5 | 20,0 |
| 8 | 5,5 | 6,0 | 9,0 | 16,5 | 17,5 | 6,0 | 7,0 | 11,0 | 15,0 | 21,0 |
| 9 | 5,0 | 6,0 | 9,0 | 16,0 | 22,0 | 7,0 | 8,5 | 13,0 | 16,0 | 27,0 |
| 10 | 5,0 | 6,5 | 11,0 | 20,0 | 23,0 | 7,0 | 8,0 | 13,5 | 20,0 | 24,5 |
| 11 | 4,5 | 6,0 | 10,5 | 22,0 | 26,0 | 8.0 | 9,0 | 14,0 | 21,0 | 29,5 |
| 12 | 5,0 | 6,0 | 11,0 | 18,0 | 30,0 | 7,5 | 9,0 | 13,5 | 21,5 | 27,0 |
| 13 | 5,0 | 6,0 | 9,0 | 16,5 | 26,5 | 6,0 | 9,0 | 15,0 | 21,5 | 30,0 |
| 14 | 4,0 | 5,5 | 9,0 | 15,0 | 22,5 | 8.0 | 10,5 | 17,0 | 22,0 | 32,0 |
| 15 | 5,0 | 6,0 | 7,5 | 14,5 | 23,0 | 8,5 | 10,0 | 16,5 | 25,0 | 32,1 |
| 16 | 4,5 | 5,5 | 8,0 | 18,5 | 22,0 | 11,0 | 12,0 | 18,0 | 24,5 | 33,1 |
| 17 | 4,0 | 5,0 | 7,0 | 12,5 | 25,5 | 9,5 | 11,5 | 20,0 | 27,0 | 34,5 |
| 18 | 4,0 | 6,0 | 9,5 | 17,5 | 18,0 | 11,0 | 12,5 | 18,0 | 26,5 | 35,0 |
| 19 | 5,0 | 6,5 | 9,0 | 16,0 | 22,5 | 10,5 | 13,0 | 19,0 | 27,0 | 33,5 |

Fonte: NCHS, 1975-1980.

Quadro 3 - Valores de circunferência abdominal em cm – percentil 90.

| Etnia | Branco | | Negro | |
|---|---|---|---|---|
| **Idade (anos)** | **Meninos** | **Meninas** | **Meninos** | **Meninas** |
| 5 | 59 | 57 | 56 | 56 |
| 6 | 61 | 60 | 60 | 59 |
| 7 | 61 | 64 | 61 | 67 |
| 8 | 75 | 73 | 67 | 65 |
| 9 | 77 | 73 | 74 | 78 |
| 10 | 88 | 75 | 79 | 79 |
| 11 | 90 | 83 | 79 | 87 |
| 12 | 89 | 83 | 87 | 84 |
| 13 | 95 | 94 | 87 | 81 |
| 14 | 99 | 96 | 85 | 92 |
| 15 | 99 | 88 | 81 | 85 |
| 16 | 97 | 93 | 91 | 90 |
| 17 | 90 | 86 | 101 | 105 |

Fonte: Freedman, 1999[36].

Para o diagnóstico e acompanhamento clínico da obesidade, a Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP) recomenda, entre outras medidas, que sejam dosadas a glicemia de jejum, o perfil lipídico com jejum de 12 horas e a alanina aminotransferase (ALT), dados estes que funcionam como uma triagem para as comorbidades mais frequentes na obesidade, desde que interpretados com os valores próprios para a faixa pediátrica[38] (Quadro 4).

Quadro 4 –"*Screening*" universal para crianças e adolescentes com excesso de peso com valores de referência laboratorial de normalidade.

| Exame | Valores de referência e interpretação | | |
|---|---|---|---|
| | Desejável | Limítrofes | Alterados |
| Glicemia de jejum | <100mg/dL | 100 a 126mg/dL Solicitar TOTG | >126 → diabetes mellitus |
| Perfil lipídico (jejum de 12 h) Colesterol total | <150mg/dL | 150 a 169mg/dL | >170 |
| HDL colesterol | ≥45mg/dL | | <45 |
| LDL colesterol | <100mg/dL | 100 a 129mg/dL | >130 |
| Triglicerídeos | <100mg/dL | 100 a 129mg/dL | >130 |
| ALT | <100mg/dL | | |
| TOTG (teste oral de tolerância à glicose) | <200mg/dL aos 120 minutos | Entre 140 e 200mg/dL aos 120min. – intolerância à glicose | >120mg/dL aos 120min → diabetes mellitus |

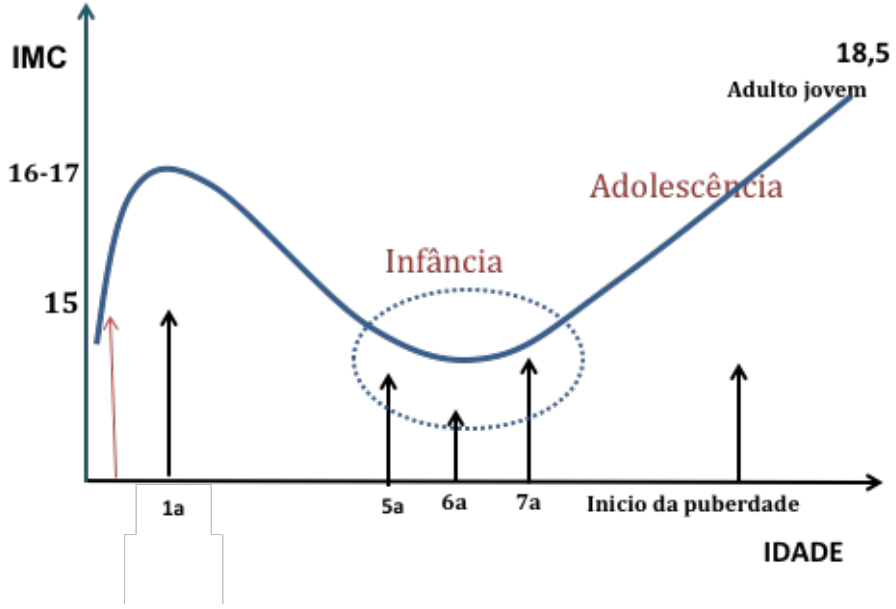
Fonte: Sociedade Brasileira de Pediatria, 2008.

### 1.1.2 O tecido adiposo e a inflamação

O tecido adiposo é formado pelos adipócitos (50%), fibras de colágeno, tecido nervoso, nódulos linfáticos, leucócitos, macrófagos, células do mesênquima, fibroblastos e pré-adipócitos. Estes pré adipócitos possuem intensa capacidade fagocítica, além de terem a capacidade de se transformar em células semelhantes a macrófagos. Os macrófagos são secretores de fatores pró-inflamatórios e desempenham papel chave na inflamação crônica que ocorre na obesidade[13]. O tecido adiposo (TA) compõe-se de tecido adiposo branco (TAB), cuja maior parte (85%) está no subcutâneo – tecido adiposo subcutâneo (TAS) , e o restante - tecido adiposo visceral (TAV) na cavidade abdominal, intra e retroperitoneal , além do tecido adiposo marrom (TAM), que é abundante nos recém nascidos e permanece em mínimas quantidades no adulto nas regiões do pescoço, supraclavicular, no mediastino e na região suprarrenal [38]. Além dos papeis de proteção mecânica dos órgãos que envolve e de manutenção da temperatura como isolante térmico, este tecido sempre foi definido como principal local de armazenamento das reservas energéticas que é feito sob a forma de triacilglicerois nos lipossomas[39,40].

Crianças tem um rápido ganho de peso (proporcionalmente maior que o de estatura) durante o primeiro ano de vida e então o IMC aumenta. Após o 9º-12º mês de vida o IMC começa a declinar e chega a um valor mínimo entre 5 e 6 anos, quando volta a crescer novamente até a adolescência e a vida adulta. O ponto de menor IMC antes de voltar a crescer, ou ponto de inflexão da curva, se denomina rebote da adiposidade (AR- do inglês "*adiposity rebound*") indicando uma época crítica para o desenvolvimento de obesidade futura, sendo que, se ocorre em idades mais precoces, se relaciona com grandes IMC na adolescência e adultice jovem[15,41] (Figura 3). Whitaker e colaboradores trabalharam com uma coorte em Seattle, Washington, nos Estados Unidos da América, com 390 integrantes, onde a média de ocorrência do rebote da adiposidade foi de 5,5 anos e 15% dos integrantes resultaram ser jovens adultos obesos e se determinou uma razão de chances de 6,0(IC1,3-26,6) para obesidade quando adultos jovens em relação a AR precoce (antes de 5.5 anos)[15].

Figura 3 - Rebote da adiposidade




Legenda: Decurso temporal da adiposidade de rebote. Após o nascimento, a criança tem grande acréscimo no IMC até pouco antes de 1 ano, quando então proporcionalmente ganha mais estatura que peso, e o IMC diminui os valores mais baixos entre 5 e 6 anos. Em torno do sexto ano volta a aumentar progressivamente até o fim da adolescência

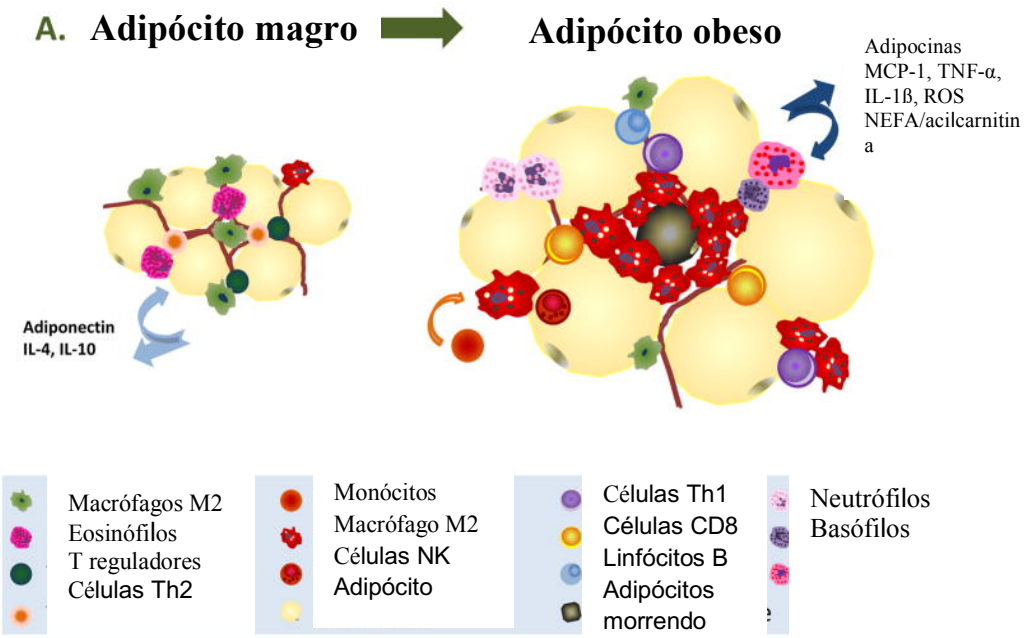
Fonte: Adaptado de Boonpleng W, 2012.

Dois estudos mostram que a distribuição do tecido adiposo, principalmente a parcela visceral, está mais relacionada às comorbidades cardiovasculares que o seu aumento ou aumento do IMC em si[23,41]. Com o aumento do tecido adiposo aumentam também as substâncias secretadas por ele, denominadas adipocinas[8,42]. Estas são proteínas solúveis que mediam a comunicação intercelular através de receptores específicos, e incluem citocinas clássicas, fatores de crescimento e também proteínas relacionadas à regulação da pressão arterial, assim como à homeostase vascular, o metabolismo lipídico, glicídico e à angiogênese[43].

Quando os adipócitos se hipertrofiam por acúmulo de gordura, há um estímulo para a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros e inicia-se uma compressão dos vasos sanguíneos no TAB, impedindo um suprimento adequado de oxigênio. Ocorre, então, hipóxia local e morte de alguns adipócitos. Ao mesmo tempo aumenta a concentração plasmática da leptina e diminui a adiponectina. São produzidas quimiocinas, como a proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1do inglês *monocyte chemoattractant protein-1*) que recruta monócitos e promove

polarização de macrófagos para o fenótipo pró-inflamatório (M1). Estes macrófagos M1 produzem muitos mediadores pró-inflamatórios[44], o que resulta numa cascata de resposta inflamatória e também no processo de angiogênese, para formação de novos vasos, que propiciam então condição para mais hipertrofia adipocitária. A partir deste ponto, a obesidade e a inflamação estão associadas e apresentam contribuição cíclica no agravamento de ambas[45] (Figura 4).

Figura 4 - Alterações de celularidade do tecido adiposo na obesidade.




Legenda: A adiponectina atua sobre os adipócitos magros, promovendo a liberação de citocinas anti-inflamatórias tais como IL-4 e IL-10. Por outro lado, adipócitos obesos tendem a secretar citocinas com perfil pró-inflamatório tais como IL-1b, TNF-α e MCP1, além de ativar a produção de espécies reativas do oxigênio.MCP-1 proteína quimioatrativa de monócitos; TNF-α fator de necrose tumoral α; IL-1β interleucina 1 β; ROS substancias reativas de oxigênio; IL-4 interleucina 4; IL-10 interleucina 10
Fonte: Adaptado de Johnson, 2012[46]

Altos níveis circulantes de citocinas estimulam o eixo adrenal-hipotálamo-hipofisário a se contrapor ao estresse ativando o sistema nervoso autônomo. O estresse crônico induzido pela obesidade prolonga esta resposta adaptativa, o que aumenta a secreção de glicocorticoides, que por sua vez estimula a diferenciação dos pré-adipócitos, favorecendo o subsequente aumento da massa gorda do TAB. Temos

então mais um círculo vicioso entre respostas metabólicas e imunológicas, mantendo a ativação in4lamatória crônica que favorece o surgimento das doenças relacionadas à obesidade[44,46,47].

A elevação dos marcadores inflamatórios tais como o TNF-α, a IL-6, PCR e a proteína quimiotáxica de monócitos (MCP-1), observados na obesidade é proveniente da produção destas substâncias pelos próprios adipócitos e pelos macrófagos infiltrados no tecido. Uma parcela destes marcadores pode ser produzida em outros órgãos, como o fígado, que estimulado por citocinas do TAB produz PCR[48].

As adipocinas são proteínas de baixo peso molecular, com diversas funções metabólicas e endócrinas, com efeitos pró ou anti-inflamatórios que modulam a inflamação e resposta do sistema imune[47]. As adipocinas pró-inflamatórias são consideradas como fatores de risco independentes para doenças das artérias coronárias e cerebrovasculares. As principais fontes de adipocinas são os TAS e TAV[44]. Quanto maior a quantidade de tecido adiposo, maior é a secreção das adipocinas como TNF-α e IL-6, que tem funções imunológicas e são produzidas em resposta a estímulos infecciosos ou inflamatórios[8,49], assim como do Fator inibidor do plasminogênio (PAI-1) e a proteína quimiotáxica de monócitos ( MCP-1), que também são exemplos de substancias que contribuem para a RI, especialmente para o depósito de gordura abdominal, e que tem papel na gênese das doenças cardiovasculares[50].

Tendo em vista que as citocinas IL-6, TNF-α, IL -1β e MCP-1 desempenham papel central no desencadeamento das respostas inflamatórias, sendo responsáveis por induzir a expressão e liberação das demais citocinas em diferentes tecidos e que foram associadas com a obesidade em outros estudos[43,,51,52], decidiu-se dosá-las nas crianças do nosso estudo e detalhamos um pouco mais suas funções, assim como as da adiponectina e Il-10, que tem papel anti-inflamatório, modulando esta resposta inflamatória.

O TNF-α é uma citocina pró-inflamatória com ação autócrina, parácrina e endócrina, e está associado às condições de obesidade e RI. No TAB, o TNF-α é expresso por adipócitos e células do estroma vascular, incluindo os macrófagos e seus níveis plasmáticos possuem correlação positiva com a obesidade e a resistência insulínica. Giordano e colaboradores (2011) compararam o estado inflamatório em 59 crianças italianas obesas e 40 não obesas. Os resultados mostraram níveis mais elevados de TNF-α nas crianças obesas, associando-se a um estado pró-

inflamatorio[51]. Quanto aos mecanismos pelos quais isto ocorre, o TNF-α parece estar envolvido na RI por inibir a fosforilação da tirosina presente no substrato-1 do receptor de insulina (IRS-1)[8]. Além disso, em estudos experimentais, o TNF-α pode acelerar o processo de aterosclerose por induzir as moléculas de adesão nas células do endotélio[44].

A IL-6 é outra citocina pró-inflamatória, e tanto ela quanto seu receptor são produzidos/expressos no TAB (10 a 30% dos teores circulantes desta citocina), principalmente o visceral, e também em outros órgãos, como o fígado. O conteúdo plasmático aumentado de IL-6 pode estimular a síntese hepática de TAG, contribuindo para a hipertrigliceridemia associada à obesidade visceral. A IL -6 também é capaz de inibir a atividade da lipoproteína lipase e estimular a lipólise, afetando o perfil lipídico e contribuindo na patogênese da doença aterosclerótica. Ainda, a IL-6 suprime a expressão de adiponectina e altera a sinalização insulínica em hepatócitos mediante inibição do receptor de insulina dependente de auto fosforilação, promovendo assim resistência à ação do hormônio no tecido. A administração periférica de IL-6 em ratos induz hiperlipidemia, hiperglicemia e resistência insulínica, enquanto em humanos sua concentração está elevada em obesos e a perda de peso promove diminuição dos seus níveis[43]. Em trabalho de revisão para investigar associação de IL-6 com obesidade (juntamente com outros marcadores de inflamação), Guedes e colaboradores[52] revisaram 15 estudos (de outros autores), com crianças, elaborados entre 2009 e 2014 e entre estes estudos observaram que 11 deles mostraram relação positiva e significativa da obesidade com níveis aumentados de IL-6. Da mesma forma o estudo de Bugge e colaboradores[53], com 292 crianças de ambos os sexos avaliou as concentrações de IL-6 na infância (9 anos de idade) e sua correlação com RI na adolescência (13 anos de idade) e os resultados demonstraram que as concentrações de IL-6 se correlacionaram positivamente com RI apenas nas mulheres. Paralelamente, estudo de revisão demonstrou que as concentrações de IL-6 e TNF-α aumentaram com a idade, sendo que os principais fatores envolvidos nesse processo foram redução dos hormônios sexuais e aumento do TAV.

Já a IL-1ß é uma citocina pró-inflamatória que entre outros efeitos induz febre, formação de proteínas de fase aguda e produção de anticorpos. Parece afetar a homeostase da glicose e a sensibilidade à insulina através de mecanismos centrais e periféricos. Afeta diretamente o adipócito diminuindo a expressão e atividade da lipase lipoproteica (LPL), aumentando a lipólise. A síntese de IL-1ß pode ser induzida por

TNF-α, interferon ɣ, LPS, vírus e antígenos[44]. Juntamente com o TNFα estimula a produção de IL-6 por células musculares lisas e aumenta a expressão de macrófagos, fator de crescimento derivado de plaquetas e fator de crescimento de fibroblastos associados com a progressão do processo inflamatório[53].

Diferentemente das citocinas já citadas, a adiponectina é uma citocina anti-inflamatória e anti-aterogênica, que também aumenta a sensibilidade à insulina. Tem também efeitos antioxidantes e apresenta correlação inversa com a obesidade, com o hiperinsulinismo, com os valores de LDL-colesterol e a RI[54]. Em estudo com crianças portuguesas obesas e não obesas, mostrou-se com valores significativamente mais baixos nas crianças obesas[51]. O fato de estar inversamente relacionada à obesidade e com valores mais baixos em indivíduos com maior RI a transforma numa substancia com potencial para possíveis intervenções terapêuticas.

Outra citocina anti-inflamatória importante é a IL-10, que é produzida por linfócitos T, linfócitos B monócitos e macrófagos com polarização M2 e que inibe de maneira potente a produção de várias citocinas pró-inflamatórias (IL-1,IL-6 e TNF-α) e quimiocinas, inibindo interações celulares endoteliais e leucocitárias além de aumentar os níveis de outras citocinas anti-inflamatórias como a IL-1Ra[44,53].

Embora não seja uma adipocina, a PCR tem importância neste processo inflamatório pois é produzida no fígado por estimulação da IL-6 e promove infiltração, polarização e recrutamento de monócitos e pré adipócitos para formar macrófagos e iniciar a inflamação subclínica presente na obesidade, em um ciclo vicioso que se perpetua enquanto o ganho de peso persiste[55]. Em 2005, o FDA estabeleceu os tipos de teste e pontos de corte para proteína C reativa ultra sensível (PCR-us), usada para avaliar a presença de inflamação de baixa intensidade. Valores normais em crianças são aqueles ≤ 1,0 mg/l; limítrofes entre 1,0 e 3,0 mg/l; e aumentados > 3,0 mg/l. Guran e colaboradores determinaram o ponto de corte para PCR que se correlacionava com a presença de fatores de risco cardiovascular (colesterol aumentado, HAS, OB, HDL-c reduzido) e história familiar de doenças cardiovasculares (DCV). Foi estabelecido um valor de PCR > 1,04 mg/l com 58% de sensibilidade e 92% de especificidade[56]. Carmona-Montesinos e colaboradores (2015) estudaram 50 crianças obesas e 50 crianças não obesas, todas com idades entre 3 a 5 anos, mostrando correlação positiva e significativa entre a obesidade e níveis aumentados de PCR-us, IMC, triglicerídeos e glicemia de jejum[55].

Muitas outras adipocinas se relacionam com a obesidade e suas comorbidades[9,11,53,57] e suas principais características estão descritas no Quadro 5.

Quadro 5 - Outras adipocinas e suas características no excesso de peso.

| Adipocina | Principais características |
|---|---|
| Leptina | Regula o tamanho dos adipócitos<br>Controla a ingestão alimentar<br>Controla a taxa de metabolismo basal[58]<br>Seu aumento gera produção aumentada de citocinas pró- inflamatórias.<br>Preditora de RI e outros riscos metabólicos [59]<br>Efeitos na angiogênese e controle de pressão sanguinea[60] |
| Resistina | Promove resistência insulínica, diminui gliconeogênese hepática e regula adipogênese pela sua alta expressão nos pré-adipócitos[58]<br>Pode induzir expressão de TNF-α, da IL-6 e da IL-12[9] |
| Visfatina | Expressa por macrófagos do TAB<br>Induz expressão de TNF-α, da IL-6 e da IL-1β<br>Níveis circulantes aumentados na obesidade mórbida<br>Níveis aumentados com correlação positiva com aumento de glicemia de jejum, RI e HOMA-IR aumentados em crianças[58,,61,62] |
| Chemerin | Ligante da proteína G acoplada ao receptor (CMK R1), marcador de acumulação ectópica de lípides no fígado tem correlação positiva com aumento da gamaglutamil transferase e com a intensidade da esteatose hepática[63] |
| Proteína sero amiloide (SAA) | Reflete estado inflamatório agudo[60] |
| Adipsina | Componente do sistema de complemento[60] |
| Angiotensinogênio | Função cardiovascular, regulação da pressão arterial |
| PAI -1 | Altos níveis de PAI-1 determinam hipofibrinólise e estado pró-trombótico<br>Em condições de obesidade contribui para as complicações relativas à aterotrombose, resistência à insulina e DM2[44] |
| Apelina | Reduz a ingestão alimentar<br>Envolvida na regulação das funções cardiovascular, gastrointestinal e imunitária, na fisiologia óssea, na homeostasia de fluidos e no desenvolvimento embrionário do sistema cardiovascular[62] |
| Omentin | Aumenta o transporte de glicose estimulado pela insulina. Modula a ação da insulina[44,62] |

### 1.1.3 Morbidades associadas à obesidade

A obesidade está relacionada com o desenvolvimento de várias outras alterações clínicas, sendo um importante fator causal prevenível de grande número de doenças crônicas não transmissíveis[64]. A resistência à insulina (RI) é uma alteração tida como ponto inicial de uma sequencia de outras alterações e é definida como a incapacidade do organismo de responder à insulina. Em crianças e adolescentes obesos, a resistência à ação da insulina nos tecidos e os níveis séricos elevados de insulina em jejum são alterações associadas a fatores de risco cardiovasculares em padrão semelhante aos distúrbios observados em grupos com idade mais avançadas[14]. Essa capacidade diminuída dos tecidos-alvo (músculo, tecido adiposo e fígado) de responder à ação celular da insulina dificulta a entrada de glicose nas células, que se acumula no sangue. Ocorre então um aumento da secreção pancreática da insulina para tentar manter a tolerância à glicose. Quando as células beta do pâncreas atingem seu limite secretor máximo e entram em falência, o paciente desenvolve Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2)[65]. Em trabalho integrante do *Bogalusa -Heart Study*, Freedman e colaboradores sugerem que haja uma associação independente entre resistência à insulina, gordura corporal e risco cardiovascular e que, quando esses fatores são combinados, o aumento no risco cardiovascular é maior do que quando somente resistência à insulina ou gordura corpórea são avaliadas isoladamente, ou seja, há um efeito cumulativo[36,66].

Por seu papel central no metabolismo da glicose, e sua associação com a obesidade, dislipidemia e hipertensão arterial, a resistência a insulina (RI) está no centro das alterações que culminam na síndrome metabólica e que também são fatores de risco para desenvolvimento do DM2 e doença cardiovascular[14,38,67,68].

Além dos achados clínicos de *Acantose nigricans*, estrias, acne, síndrome dos ovários policísticos, dislipidemia e outros, o diagnóstico da RI se faz testando a insulinemia e a glicemia. O método “padrão ouro” é o *clamp* euglicêmico – hiperinsulinêmico, que é caro e trabalhoso. Dosagem de insulina de jejum ou avaliação da insulinemia durante teste de tolerância à glicose também podem dar o diagnóstico. O método que mais tem sido utilizado é o HOMA-IR (do inglês, *homeostasis model assessment- insuline resistence*), que tem boa correlação com o *clamp* euglicemico-hiperinsulinêmico e a insulinemia de jejum, é simples e se baseia na seguinte fórmula[69]:

HOMA-IR= $\text{glicemia de jejum}\left(\frac{mmol}{L}\right) x \text{ insulinemia de jejum } (\mu\frac{U}{ml})$/ 22,5

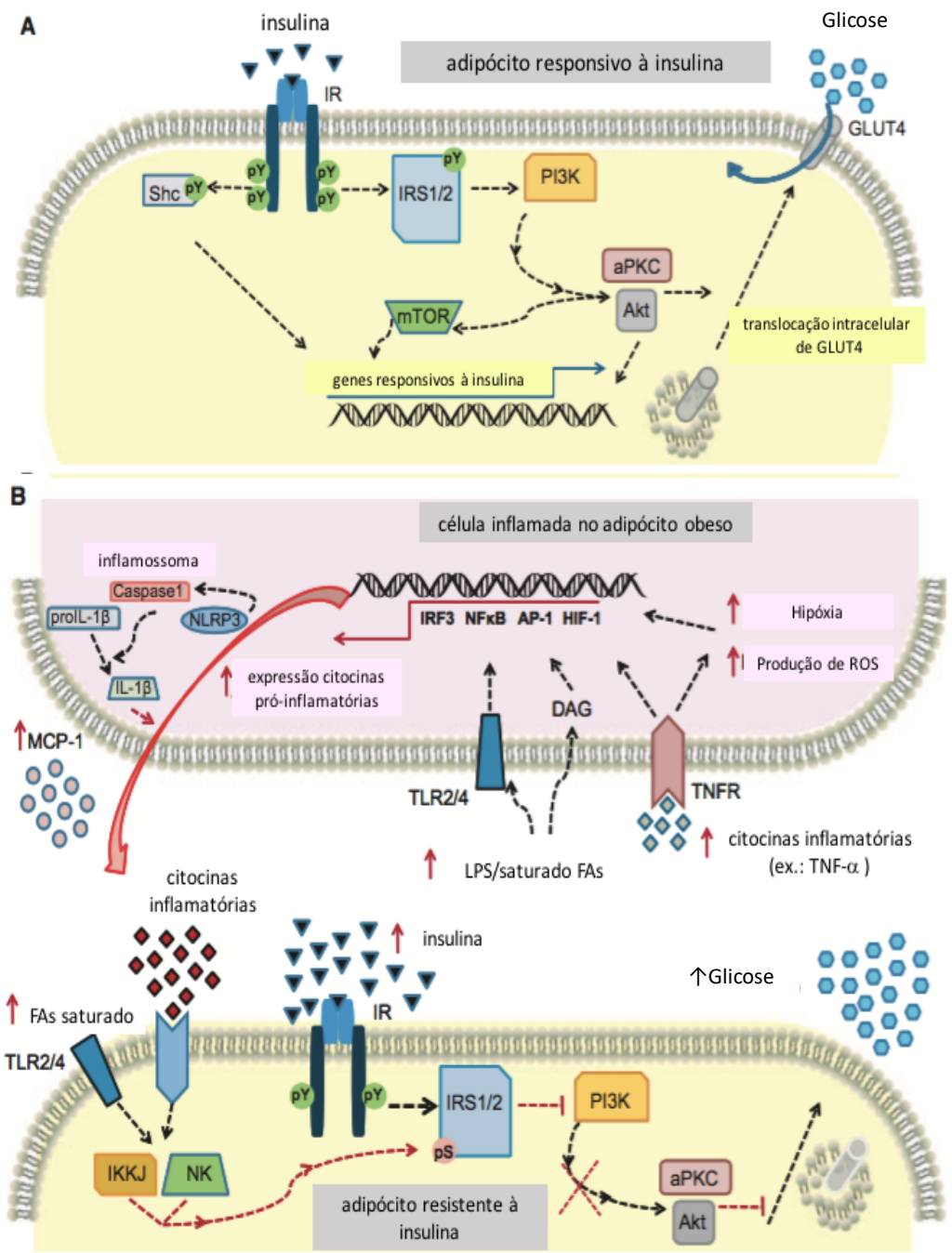
Para transformar glicemia medida em mg/dL em mmol, basta multiplicar por 0,05. Valores de 2,5 a 4 estão na literatura como pontos de corte para resistência à insulina[69,70].

De acordo com Johnson e colaboradores[45], os mecanismos celulares envolvidos na resistência à insulina são complexos e aparecem esquematizados na Figura 3. A partir desta imagem percebe-se que num adipócito normal os sinais iniciados pela insulina via interação com seu receptor (IR) levam a subsequente fosforilação de resíduos de serina em diversos substratos intracelulares, incluindo o substrato do receptor de insulina, que interage então com diferentes quinases para que ocorra então a translocação do transportador de glicose (GLUT4) para a membrana, a partir de vesículas intracelulares. A acumulação de GLUT4 na membrana plasmática permite a absorção de glicose em resposta à insulina e reduz os níveis de glicose circulante após alimentação.

No entanto, à medida que o depósito adiposo se expande em tamanho como ocorre durante o processo de obesidade, diferentes células começam a exibir um estado inflamado através de vários mecanismos, incluindo hipóxia, liberação de ácidos graxos pró-inflamatórios não esterificados, produção de espécies reativas do oxigênio (ROS) e citocinas, entre outros. Além disso, níveis elevados de ácidos graxos saturados circulantes (FAs) podem dar origem a mediadores inflamatórios lipídicos que, juntamente com citocinas inflamatórias como o TNF-$\alpha$ podem ativar ainda mais a resposta imune e aumentar a produção de ROSs.

O ponto culminante do estresse em uma célula adiposa inflamada induzida por hipóxia, ácidos graxos, glicose, ROS e citocinas inflamatórias resulta na transcrição de citocinas inflamatórias e enzimas via ativação de fatores de transcrição tais como IKK e JNK, que quando ativados previnem a ativação das quinases intracelulares, interferindo na atividade do receptor de insulina. Em última análise, a resistência à insulina conduz a um prejuízo no tráfico de GLUT4 para a membrana e, consequentemente, aos níveis elevados de glicose circulante, a secreção compensatória de insulina por células beta pancreáticas e, finalmente, ao diabetes tipo 2. (Figura 5)

Figura 5 – Mecanismos de resistência à insulina induzidos pela inflamação.




Legenda: Mecanismos da resistência insulínica induzida pela inflamação. **(A)** Sinais intracelulares em célula adiposa normal. **(B)** Alterações que ocorrem à medida que o adipócito se expande em tamanho. **(C)** Alterações observadas no adipócito resistente à insulina. IR: receptor de insulina; IRS1/2: substrato dos receptores de insulina 1 e 2; P13K: fosfatodilinositol 3 cinase mTOR: Akt: proteino cinase NRP3: família da NRL com domínio de pirina 3 IRF3: fator regulador de interferon 3 NFκB: fator nuclear κB; AP-1: proteína ativadora 1 HiF-1: fator indutor de hipóxia DAG: diacilgliceride TLR2/4: receptor toll like 2/4; IKK e NKJ: cinases que bloqueiam a sinalização de insulina aPKC: MCP-1: proteína quimiotáxica de monócitos;

Fonte: Adaptado de Johnson, 2012[46].

A síndrome metabólica (SM) é outra condição clínica importante que agrega alterações fisiológicas, bioquímicas e antropométricas, cujo elo metabólico é a RI associada à gordura visceral[14,42]. Em decorrência da RI ocorre aumento da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-c), aumento de síntese de colesterol com LDL-c menores e com maior proporção de apolipotroteína B, redução do HDL-c, aumento da atividade simpática, maior proliferação de células da camada muscular da parede vascular e maior formação de placas ateromatosas[69]. Alguns autores sugerem que a síndrome metabólica possa ser "programada" no período gestacional através de adaptações metabólicas a um ambiente de carência nutricional, fato este que, se depois do nascimento o indivíduo for colocado frente a uma realidade nutricional diferente, geraria um perfil alterado de expressão gênica dos adipócitos e que esta mudança fisiológica ajudaria no aparecimento das características da SM[4,32,45]. Animais expostos à incompatibilidade nutricional entre os ambientes pré e pós-natal desenvolvem obesidade, hipertrofia de adipócitos, atividade reduzida de leptina, disfunção de células endoteliais, aumento da pressão arterial e alterações da função cardiovascular[31], o que ocorreria de forma semelhante em humanos[31,32].

Não existe consenso sobre a SM em crianças, mas a SBP adota o critério da Federação Internacional de Diabetes que define SM entre adolescentes de 10 a 16 anos como aumento da circunferência abdominal (maior que o percentil 90 para sexo e idade) somado a pelo menos duas das quatro anormalidades listadas a seguir: Hipertrigliceridemia > 150mg/dL; HDL-colesterol < 40mg/dL; Hipertensão arterial – sistólica > 130mmHg e diastólica > 85 mmHg ; Intolerância à glicose – glicemia de jejum > 100mg/dL ou presença de DM2[72] .

Embora possa parecer difícil que crianças possam apresentar tantas alterações, Ferreira e colaboradores estudando 52 escolares obesos, com idades entre 7 e 11 anos, oriundas de escolas públicas de Taguatinga-DF, encontraram SM em 17,3% deles[14,71]. Neste mesmo estudo a RI diferiu significativamente entre o sexo feminino (3,8 ± 2,2; IC95% 2,9-4,8) e o sexo masculino (2,6 ± 1,3; IC95% 2,1-3,1); p = 0,016. Cerca de 44,2% da amostra apresentou pelo menos dois fatores de risco, e 15% apresentou hipertensão arterial[73]. Batista e colaboradores, em 2016, em estudo com 449 crianças e adolescentes femininas, com idade entre 8 e 18 anos, em Natal-RN encontraram uma prevalência de 3,3% de SM entre elas, com razão de chances

de 3,3 (IC 1,2 – 5) em pós púberes e 2,1(IC 2 – 2,2) em obesas, demonstrando uma associação linear significante do IMC com a SM no grupo estudado[72].

A forma mais comum de apresentação de hipertensão arterial sistêmica (HAS) na infância é a associada à obesidade, com prevalência de 30% nas crianças que apresentam IMC superior ao percentil 90, chegando a 45% em adolescentes com IMC >99,5 para idade e sexo[72]. Apesar de não completamente esclarecida pode ser provocada por alterações da RI, hiperatividade do sistema nervoso simpático e alterações de estrutura e função vasculares[72]. Rosaneli e colaboradores, estudando crianças com idades entre 6 e 11 anos, em escolas públicas e particulares de Maringá-PR, encontraram prevalência de pressão arterial (PA) elevada em 11,2% em crianças eutróficas, 20,6% nas crianças com sobrepeso (OR = 1,99, IC 95% = 1,61–2,45) e em 39,7% das crianças obesas (OR = 5,4, IC 95% = 4,23–6,89)[41].

Outras comorbidades são frequentes em pacientes obesos, tanto em crianças quanto em adultos e entre elas destaca-se a doença gordurosa hepática não alcoólica (DHGNA), que é provocada por associação de resistência insulínica e estresse oxidativo, sendo caracterizada por infiltração gordurosa no fígado, e que pode evoluir para esteato-hepatite em 20% dos casos e mais raramente até a cirrose (2%)[75]. As comorbidades ortopédicas também são muito comuns e na maioria das vezes decorrem da modificação do eixo de equilíbrio (o que causa aumento da lordose lombar, protrusão do abdome e antero-versão da pelve e também cifose torácica e aumento da lordose cervical) podendo ocorrer também joelho valgo, tíbia vara, condromalácia patelar e outros, além de lesões graves de natureza inflamatória, como a osteocondrite do quadril ou necróticas como a epifisiólise da cabeça do fêmur[76]. A Síndrome da Apneia Obstrutiva do Sono (SAOS) que é definida como episódios repetidos de pausas respiratórias associadas à interrupção do sono e queda da saturação da oxihemoglobina, pode ocorrer em qualquer idade, mas acomete principalmente homens obesos entre 40 e 60 anos, sendo menos frequente em mulheres antes da menopausa, devendo seu diagnóstico ser comprovado por polissonografia para orientar o tratamento, que além do emagrecimento pode demandar cirurgias, uso de aparelhos de pressão positiva, e atenção de neurologistas e otorrinolaringologistas[77].

#### 1.1.3.1 Crianças obesas e marcadores inflamatórios

A cada dia aumentam os diagnósticos de obesidade em crianças, que atingem esta condição em idades cada vez mais precoces. Sabendo que um grande numero delas levará este estado até a vida adulta e que os efeitos deletérios de um baixo grau de inflamação são cumulativos e nem sempre reversíveis, torna-se importante identificar o mais cedo possível a ocorrência destas alterações.

O presente estudo se justifica na medida em que identificar a adiposidade nesta idade aumenta as oportunidades de intervenção mais precoce e mais efetiva e também oferece maior possibilidade de acompanhar a evolução destes casos e compreender melhor a doença. Finalmente deve-se ressaltar a importância de conhecer a evolução dos marcadores inflamatórios em crianças mais novas, pois identificando suas alterações e sabendo da sua participação na manutenção do estado inflamatório que é subclínico[78], talvez possamos usá-los no diagnóstico e até como foco de tratamento[43], principalmente considerando que a programação do número de adipócitos que o indivíduo terá na vida, acontece principalmente na idade pré-escolar e este é um momento crucial para identificar e prevenir o desenvolvimento de futuras complicações[79].

# 2. OBJETIVOS

## 2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar os níveis séricos de marcadores inflamatórios, características metabólicas, de adiposidade e de resistência à insulina entre crianças obesas e eutróficas integrantes da Coorte Brasil Sul.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever a classificação do estado nutricional segundo o IMC das crianças envolvidas no estudo;
- Comparar a circunferência de cintura das crianças obesas e eutróficas;
- Comparar o valor da prega tricipital entre crianças obesas e eutróficas;
- Comparar os níveis plasmáticos da glicemia e insulinemia de jejum em ambos os grupos;
- Analisar os níveis plasmáticos TG, CT e HDL-c em ambos os grupos;
- Identificar os níveis de PCR-us entre crianças obesas e eutróficas;
- Determinar os níveis das citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa, IL-6 e IL-1beta) e anti-inflamatória (IL- 10 e adiponectina) entre as crianças dos dois grupos.

# 3. MÉTODOS

## 3.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo transversal, descritivo analítico envolvendo crianças nascidas em 2009 e moradoras no município de Palhoça/SC, com delineamento exploratório para comparação da média de diferentes parâmetros relacionados à obesidade, para amostras independentes entre sujeitos eutróficos ou obesos.

## 3.2 POPULAÇÃO, LOCAL, TEMPO E AMOSTRA

Os sujeitos deste estudo são crianças nascidas em 2009 e moradoras no município de Palhoça-SC, participantes do Projeto Coorte Brasil Sul conduzido pelo PPGCS da UNISUL e aprovado pelo CEP-UNISUL (parecer 2.113.661), escolha esta feita por conveniência. A partir das análises antropométricas realizadas nestas crianças pela equipe deste projeto, foram identificadas dois grupos de crianças, eutróficas e obesas, que foram convidadas por telefone, pela ordem que apareciam na listagem do projeto, até que tivesse sido alcançado o número amostral calculado em n= 16 por grupo.

A fórmula empregada para o cálculo foi a equação n/grupo= $2[(Z\alpha/2 + Z\beta) X d/\Delta]^2$, para comparação de duas médias, entre amostras independentes, considerando-se o poder do teste de 80% e o intervalo de confiança de 95%. Os demais parâmetros considerados na fórmula, para as variáveis para as quais foram encontrados registros na literatura, estão relacionadas no quadro abaixo.

Quadro 6 – Parâmetros considerados

| Estudo | Obesas (idade) | Variável | média | Desvio Padrão (DP) | Diferença a ser detectada | Poder do teste | Teste de hipótese | N= |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Olza et al., 2014[80] | 6-12 anos | Interleucina-6 | 7,45 | 0,89 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |

**(continuação)**

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Hayder AA et al., 2017[81] | 10-15 Anos | Interleucina-1β | 3,4 | 0,3 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |
| Jaleel et al., 2013[82] | 5-18 anos | TNF-α | 12,99 | 3,42 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |
| Olza et al., 2014[80] | 6-12 anos | PCR | 0,45 | 0,19 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |
| Jaleel et al., 2013[82] | 5-18 anos | HOMA-IR | 3,99 | 0,94 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |
| Olza et al., 2014[80] | 6-12 anos | HDL | 51,69 | 0,89 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |
| Olza et al., 2014[80] | 6-12 anos | TGL | 77,2 | 2,65 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |
| Olza et al., 2014[80] | 6-12 anos | glicose | 84,0 | 1,0 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |
| Olza et al., 2014[80] | 6-12 anos | insulina | 11,21 | 0,55 | Valor igual a 1 DP | 80% | Bicaudal | 16 |

O Projeto Coorte Brasil Sul já avaliou 1300 crianças nascidas em 2009 e moradoras no município envolvido. Considerando-se em torno de 7% de obesidade na população conforme dados de literatura, estimava-se que um mínimo de 130 crianças seria identificado para constituírem o grupo de crianças obesas, com um número bem mais elevado de crianças para constituírem o grupo de crianças eutróficas.

A amostragem foi do tipo por conveniência, com os participantes selecionados em ordem de entrada no estudo, ou seja, amostragem consecutiva, com a alocação dos sujeitos de acordo com o perfil de IMC e finalizou quando a quantidade total de participantes por grupo (na amostral de 16 + 20% = 19) foi atingida.

Com relação aos grupos de crianças envolvidas no estudo, estes foram:

1) Crianças eutróficas: formado por crianças identificadas a partir da análise antropométrica realizada pela equipe da Coorte Brasil Sul como aquelas que apresentaram o escore z do índice de IMC entre -1 e +1 DP;

2) Crianças obesas: formado por crianças identificadas a partir da análise antropométrica realizada pela equipe da Coorte Brasil Sul como aquelas que apresentaram o escore z do IMC maior que + 2 DP (percentil maior que 97).

## 3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídas crianças sem diagnóstico de doenças genéticas ou outras doenças graves até o momento da consulta/entrevista, que no mês anterior à sua participação não tinham apresentado doença inflamatória crônica nem utilizado quimioterápicos, corticóides ou imunossupressores, cujos pais ou responsáveis legais tenham concordado em participar da pesquisa assinando o Termo Consubstanciado Livre e Esclarecido (TCLE, Apêndice A). Para estas crianças, foi solicitado também a assinatura em um Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE, Apêndice B).

## 3.4 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Crianças que apresentaram recusa, pessoal ou de seus responsáveis, em participar da pesquisa após terem sido incluídas no estudo.

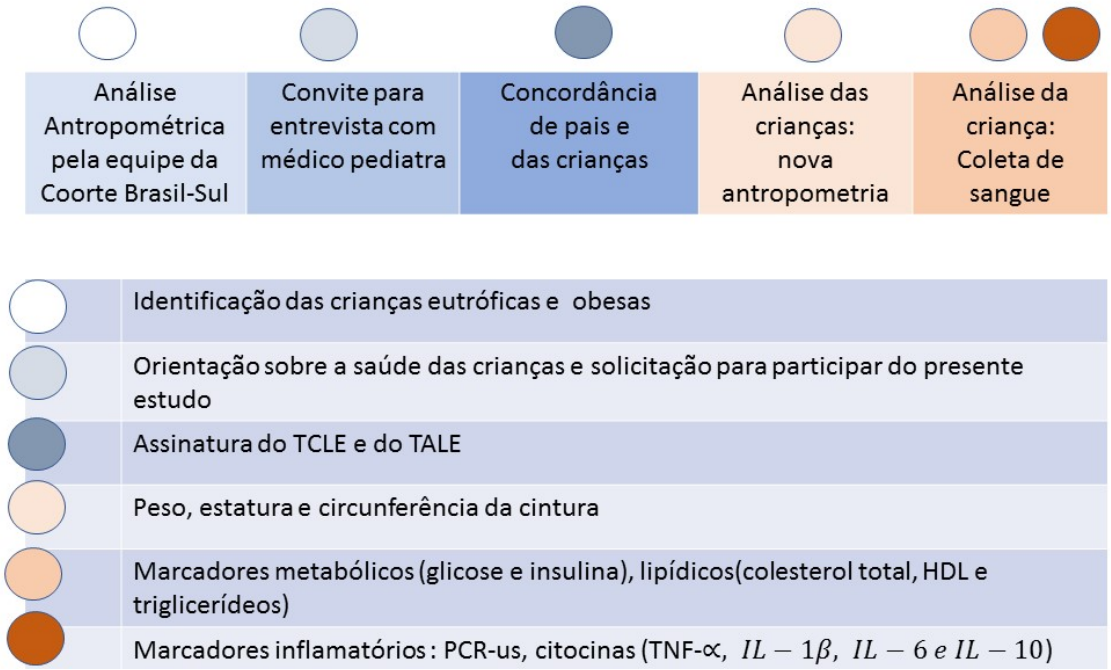
## 3.5 COLETA DE DADOS

Após identificação dos indivíduos que constituiriam os grupos de estudo, os pais das crianças foram contatados pela equipe do presente projeto e convidados para uma entrevista/consulta que foi realizada em consultório público do Hospital Regional Homero de Miranda Gomes, em São José, onde seus filhos foram atendidos pela pediatra da equipe de pesquisa, Dra. Milcia Almeida Zaidan.

Nesta entrevista/consulta, foram solucionadas dúvidas eventuais que os pais apresentaram sobre o estado geral da saúde da criança, bem como foram prestadas demais orientações necessárias quanto aos aspectos de desenvolvimento e nutrição das crianças. Foi então solicitada sua concordância para a participação de seus filhos, por meio da assinatura de novo TCLE. As crianças também foram orientadas sobre os objetivos e etapas do estudo e manifestaram sua concordância em participar da pesquisa, após a apresentação pelos pesquisadores do TALE.

Para as crianças que assentiram, posteriormente foram realizadas as demais análises descritas a seguir, conforme ilustrado do fluxograma da Figura 6.

Figura 6 - Desenho esquemático representativo das diferentes etapas do estudo.




### 3.5.1 Materiais e equipamentos

O peso e a altura das crianças foram avaliados com balança antropométrica digital (Welmy®; Santa Bárbara D'Oeste, SP, Brasil). A medida da circunferência abdominal foi feita com fita métrica inelástica com graduação em milímetros e a prega tricipital foi avaliada com plicômetro científico marca Cescorf. A coleta de sangue foi feita em 2 tubos Vacutainer , um deles contendo ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA (BD®, Santo Amaro, SP, Brasil) e o outro gel separador sem anticoagulante. Para análise dos marcadores HDL e triglicerídeos foram utilizados kits comerciais da Labtest® (Lagoa Santa, MG, Brasil) e para PCR da In Vitro Diagnóstica (Belo Horizonte, MG, Brasil). A análise ultra-sensível de insulina foi terceirizada no laboratório Bioclínico (MG, Brasil) Para detecção de citocinas foi empregado homogeneizador Ultra-Turrax (IKA T18 basic, IKA®, Nova Lima, MG, Brasil) e leitor de ELISA (Berthold Technologies – Apollo 8 – LB 912, Bad Wildbad, Alemanha).

## 3.6 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICAs

Os resultados das análises apresentadas a seguir foram registrados no Formulário do Sujeito da Pesquisa (Apêndice C).

### 3.6.1 Medidas antropométricas

Foram realizadas novamente para confirmação do estado de obesidade ou eutrofia das crianças ao longo do período que decorreu desde as primeiras medidas realizadas na criança pela equipe da Coorte Brasil Sul.

O IMC foi obtido pelo cálculo do peso dividido pela altura elevada ao quadrado, e classificado de acordo com os padrões da OMS, definidos da seguinte forma:

1 - sobrepeso : IMC situado entre as curvas de escores-z de IMC entre os valores +1 e +2 (ou percentil entre 85 a 97), para crianças com mais de 5 anos ;

2 – obesidade: IMC situado na curva acima do valor de score z +2 (ou acima do percentil de 97) para crianças acima de 5 anos.

Para o cálculo do IMC, foram coletados o peso e a altura das crianças durante as visitas nas escolas, por intermédio do método para este fim preconizado pelo Ministério de Saúde[33] descrito a seguir:

- deixar a criança descalça, com roupas bem leves e sem objetos pesados tais como chaves, cintos, óculos ou telefone;
- utilizar balança eletrônica (digital) com estadiômetro acoplado;
- ligar o aparelho antes do indivíduo posicionar-se;
- esperar que a balança chegue ao zero;
- posicionar a criança no centro do equipamento, ereto, com os pés juntos e os braços estendidos ao longo do corpo;
- realizar a leitura após o valor do peso estar fixado no visor e anotar no formulário;
- manter a criança de pé, ereta, com os braços estendidos, com a cabeça erguida, olhando para um ponto fixo na altura dos olhos;
- deixar as pernas paralelas, com os pés formando um ângulo reto com elas, e as panturrilhas, os glúteos, as escápulas e parte posterior da cabeça (região occipital) deverão estar encostados no estadiômetro;
- abaixar a parte móvel do equipamento, fixando-a contra a cabeça, com pressão suficiente para comprimir o cabelo;
- retirar o indivíduo e realizar a leitura da estatura, sem soltar a parte móvel do equipamento.

Foi aferida a circunferência abdominal. Para esta avaliação foram utilizados parâmetros preconizados por Freedman et al[36] , tambem recomendadas pelo Departamento Científico de Nutrologia da Sociedade Brasileira de Pediatria (SBP)[37]. A circunferência abdominal foi obtida através da medida da linha da cintura, no ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca, com fita métrica inelástica, de material resistente, com precisão de 0,1cm, conforme recomendado pelo Ministério da Saúde.

### 3.6.2 Coleta de sangue

Esta coleta foi feita por profissional de enfermagem treinado e responsável pela coleta de material biológico junto ao Hospital Regional Homero de Miranda Gomes, em São José, seguindo todos os cuidados técnicos e éticos necessários. A coleta foi feita na quantidade de 10,0 mL. O sangue foi coletado em dois tubos Vacutainer (BD, Brasil), um deles com EDTA e outro sem anticoagulante, mantidos em gelo e protegidos da luz até a obtenção do soro. Para isto os tubos foram entornados por oito vezes e mantidos em bancada por 20 min. Posteriormente foram centrifugados (3500 rpm, 10 min, a 4°C) para obtenção do soro, que foi então distribuído em pequenos volumes (alíquotas de 120 μl) para evitar os sucessivos degelos, sendo armazenadas a -80°C até o momento das análises de interesse, conforme descrito a seguir.

### 3.6.3 Determinação dos níveis dos marcadores inflamatórios e outras substâncias no sangue

Para determinação dos marcadores metabólicos, lipídicos e inflamatórios relacionados à obesidade, as amostras de sangue foram devidamente identificadas e o processamento foi feito de acordo com a análise pretendida, descrita a seguir.

A quantificação da PCR-us e da insulina séricas foi realizada pelo laboratório Bioclínico, por técnica de radioimunoensaio, usando sistema de quimioluminiscência, para análise ultra-sensível. As demais análises foram realizadas no Laboratório de Neurociência Experimental (LANEX), no bloco I2 da Unidade Pedra Branca, Campus Grande Florianópolis da UNISUL.

A determinação da glicose plasmática foi realizada através do kit comercial enzimático GLICOSE Liquiform® (Labtest®, Minas Gerais, Brasil). Os testes foram realizados em duplicata e os resultados classificados, segundo as Diretrizes da

Sociedade Brasileira de Diabetes[83]. Para isto, amostras de soro (10 µL) foram misturadas a 1,0 mL do reagente e incubadas em banho-maria a 37ºC durante 10 min para ocorrer a reação colorimétrica e, em seguida, foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro, entre 490 e 510 nm. Como controles, foram empregados uma solução branco e uma solução padrão[84].

A determinação de colesterol total foi realizada através do kit comercial enzimático COLESTEROL Liquiform® (Labtest®, Minas Gerais, Brasil). Os testes foram realizados em duplicata e os resultados classificados, segundo a V Diretriz Brasileira De Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose[85]. Para isto, amostras de soro (10µL) foram misturadas a 1,0 mL do reagente, misturadas e incubadas em banho-maria a 37ºC durante 10 min para ocorrer a reação colorimétrica e, em seguida, foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro entre 490 a 520 nm. Como controles, foram empregados uma solução branco e uma solução padrão. As determinações de colesterol HDL e de triglicérides plasmáticos foram realizadas, respectivamente, com uso dos kits comerciais enzimáticos COLESTEROL HDL Liquiform® e TRIGLICÉRIDES Liquiform® (Labtest, Minas Gerais, Brasil). As técnicas foram realizadas conforme análise descrita anteriormente.

O conteúdo total de proteínas foi mensurado pelo método de Bradford. Alíquotas de 100 µl de cada amostra foram usadas para a determinação dos níveis de TNF-α, IL-1β, IL-6 e IL-10 e adiponectina, usando ELISA Kits comerciais para humanos da R&D Systems, de acordo com instruções do fabricante. Os níveis de citocinas foram estimados por interpolação a partir de uma curva padrão, por colorimetria (comprimento de onda de correção 540 nm) em leitor de ELISA (Berthold Technologies – Apollo 8 – LB 912, Bad Wildbad, KG). Os resultados foram expressos em pg/mg de proteína.

## 3.7 VARIÁVEIS DO ESTUDO

As variáveis do estudo estão descritas no quadro 7.

Quadro 7 – Variáveis do estudo

| Variáveis | Tipo | Natureza | Utilização |
|---|---|---|---|
| Sexo | Independente | Qualitativa Nominal dicotômica | Masculino Feminino |
| Peso | Independente | Quantitativa continua | Peso em kg Aproximação de 2 decimais |
| Estatura | Independente | Quantitativa continua | Em metros, aproximação de 2 decimais |
| IMC | Independente | Quantitativa continua | IMC= peso/estatura² **Obesidade:** IMC >Z score +2 nas curvas OMS para sexo e idade **Eutrofia:** IMC entre -2 e +1 nas curvas OMS para sexo e idade |
| Circunferência abdominal | Dependente | Quantitativa contínua | Em centímetros, aproximação de 1 decimal |
| Prega tricipital | Dependente | Quantitativa contínua | Em milímetros |
| Interleucina-1β | Dependente | Quantitativa contínua | Pg/mg de proteína |
| Interleucina-6 | Dependente | Quantitativa contínua | Pg/mg de proteína |
| Interleucina-10 | Dependente | Quantitativa contínua | Pg/mg de proteína |
| TNF-α | Dependente | Quantitativa contínua | Pg/mg de proteína |
| PCR-us | Dependente | Quantitativa contínua | mg/dL |
| Adiponectina | Dependente | Quantitativa contínua | Pg/mg de proteína |
| Glicemia | Dependente | Quantitativa contínua | mg/dL |
| Insulina | Dependente | Quantitativa contínua | μU/ml |
| HOMA-IR | Dependente | Quantitativa contínua | insulina x glicemia/22,5 |
| Colesterol total | Dependente | Quantitativa contínua | mg/dL |
| HDL - colesterol | Dependente | Quantitativa contínua | mg/dL |
| Triglicerídeos | Dependente | Quantitativa contínua | mg/dL |
| Hemograma | Dependente | Qualitativa nominal dicotômica | Normal – leucócitos entre 3000 e 11000 Alterado – leucócitos <3000 ou > 11000. |

## 3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As informações obtidas foram inseridas em um banco de dados, desenvolvido em meio eletrônico no *software* Graph Pad Prism®, versão 6.0. As variáveis categóricas foram descritas em gráficos de distribuição de frequências, frequências absolutas e proporções. Em todos os processos de inferência estatística, neste trabalho, o intervalo de confiança foi definido em 0,95 (95%). Os dados foram, inicialmente, submetidos ao teste de normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Para os dados considerados paramétricos, foi empregado o teste t de student e os resultados foram apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Já para os dados não paramétricos, utilizou-se o teste de Mann-Whitman, sendo os resultados apresentados como mediana ± intervalo interquartil.

## 3.10 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNISUL (Anexo 1) sob o parecer número 2.113.661. Todos os pais ou responsáveis legais pelas crianças assinaram o TCLE específico e as crianças assinaram ou colocaram suas digitais no TALE. Os dados obtidos através da pesquisa são de acesso exclusivo dos pesquisadores.

O risco relativo à coleta sanguínea era mínimo, visto ser um procedimento rotineiro e executado com todos os cuidados técnicos adequados, por profissionais habilitados. Não ocorreram intercorrências que ultrapassassem a capacidade técnica do pessoal da coleta, embora uma equipe médica estivesse de sobreaviso para a devida avaliação e atenção que pudesse ser necessária.

Após o término da pesquisa os resultados foram apresentados aos pais das crianças envolvidas, por meio de correspondência. A divulgação mais ampla do resultado final do trabalho ocorrerá na forma de apresentação do trabalho para obtenção de grau de mestre em Ciências da Saúde pela UNISUL.

# 4. RESULTADOS

Foram analisadas amostras de 34 crianças, sendo 13 pertencentes ao grupo eutróficos e 21 ao grupo de obesos. As características relativas à distribuição nos grupos estão descritas na Tabela 1.

De acordo com a Tabela 1, pode-se observar que a seleção por conveniência resultou em alocação de um número semelhante de participantes de ambos os sexos nos dois grupos de estudo.

Tabela 1: Características das crianças avaliadas no presente estudo.

| Característica | Obesos | Eutróficos | Valor de P |
|---|---|---|---|
| Feminino | 10 | 7 | |
| Masculino | 11 | 6 | |
| IMC ($kg/m^2$) | 24,61 ± 0,72 $kg/m^2$ | 16,14 ± 0,53 $kg/m^2$ | 0,0417 |

Por outro lado, diferenças estatisticamente significantes foram encontradas paras diferentes características antropométricas, inflamatórias e metabólicas entre as crianças estudadas, conforme apresentado na Tabela 2.

O hemograma completo foi realizado em todas as crianças visando surpreender alguma alteração infecciosa que pudesse ter passado desapercebida entre a entrevista médica e a coleta do sangue para exames, o que poderia alterar valores de citocinas e PCR-us, e todos eles se mostraram normais.

A circunferência abdominal mostrou aumento estatisticamente significativo no grupo das criancas obesas, ainda que em oito (16,8%) das 21 criancas deste grupo os valores estivessem abaixo do percentil 90 para a medida, o que ainda não as classificaria como portadoras de obesidade central. Todas as criancas do grupo eutrófico tiveram medidas abaixo do percentil 90 para o parâmetro.

A medida da prega tricipital se mostrou acima do percentil 90 (NCHS, 1975-1990) em 17 crianças (35,7%) do grupo obesos e se mostrou abaixo do percentil 90 para todas as criancas do grupo eutrófico.

Duas crianças (5,9%) apresentaram níveis aumentados de glicose em jejum, uma de cada grupo, sem porém caracterizar resistência insulínica (ambos entre 100 e 110mg/dL).

Tabela 2: Características antropométricas, inflamatórias e metabólicas das crianças avaliadas no estudo.

| Características | Obesos | Eutróficos | Valor de P |
|---|---|---|---|
| Antropométricas | | | |
| CA (cm) ♦ | 74,05 ± 1,54 (n= 21) | 55,04 ± 0,78 (n= 13) | 0,0021* |
| PT (mm)▽ | 25 (20-30), n=21 | 15(10-20) n=13 | 0,009* |
| Inflamatórias (pg/mg de proteína) | | | |
| IL-1β▽ | 5,8 (0,9-43,6), n=7 | 11,10 (3,2-11,5), n=8 | 0,2300 |
| IL-6 ▽ | n.d. | n.d. | - |
| IL-10 ▽ | 48,00 (35,9-63,0), n=10 | 39,3 (32,1-59,3), n=10 | 0,615 |
| TNF-α♦ | 40,80 ± 6,300 (n= 10) | 42,40± 8,00 (n= 11) | 0,4060 |
| PCR-us♦ | 4,11 ± 1,38 (n= 19) | 1,21 ± 0,54 (n= 13) | 0,0002* |
| Adiponectina | 1.715,00±405,2 (n=17) | 2.111,00±780,40 (N=11) | 0,1998 |
| Metabólicas | | | |
| Glicose (mg/dL)♦ | 88,75 ± 1,89 (n= 20) | 91,66 ± 2,43 (n= 13) | 0,8550 |
| Insulina (mU/ml)♦ | 8,96 ± 0,66 (n= 19) | 3,44 ± 0,44 (n= 13) | 0,0471* |
| Homa-ir♦ | 1,79 ± 0,13 (n= 18) | 0,78 ± 0,10 (n= 13) | 0,1120 |
| CT (mg/dL)♦ | 176,90 ± 6,91 (n= 20) | 172,80 ± 7,75 (n= 13) | 0,828 |
| HDLc (mg/dL)♦ | 45,88 ± 2,28 (n= 17) | 52,33 ± 2,26 (n= 12) | 0,5444 |
| TG (mg/dL)♦ | 76,98 ± 7,88 (n= 21) | 50,69 ± 6,37 (n= 13) | 0,1098 |

Legenda: ▽= dado não paramétrico – resultado como mediana ± intervalo interquartil; ♦= dado paramétrico – resultado como média ± erro padrão da média; IMC=; índice de massa corporal; CA=; circunferência abdominal; PT: prega tricipital; IL-1ß= interleucina 1ß; IL-6= interleucina 6; IL-10= interleucina 10; FNT-α: fator de necrose tumoral α; PCR-us= proteína C reativa ultrasensível; Homa-ir= do inglês, *Homeostasis model assessment-insuline resistence;* CT= colesterol total; HDLc= HDL colesterol; TG= triglicerídeos; n.d= não detectada (valores fora da curva do kit). *P<0,05

A insulina teve aumento estatisticamente significativo no grupo dos obesos, embora com valores dentro da faixa da normalidade para ambos os grupos. O índice HOMA-ir se encontrou normal em ambos os grupos. A glicemia de jejum se mostrou discretamente alterada em uma crianca do grupo obesos.

No grupo dos obesos, 13 crianças (61,9%) apresentaram níveis clinicamente alterados de colesterol total, o que tambem aconteceu com seis crianças (46,1%) eutróficas. O HDL-c esteve clinicamente diminuido em quatro crianças obesas e em uma criança eutróficos. Os Triglicerídeos estiveram clinicamente aumentados em três obesos e em nenhum eutrófico.

Comparando o PCR-us entre os grupos, vimos que no grupo dos obesos três crianças (14,2%) apresentaram valores normais, enquanto 12 (57,1%) mostraram valores limítrofes e quatro (19,0%) apresentaram níveis aumentados. No grupo dos eutróficos apenas uma criança (7,7%) apresentou nível aumentado de PCR-us enquanto as demais apresentaram valores normais. Concluimos então que o PCR-us

mostrou aumento estatisticamente significativo no grupo dos obesos em relação ao grupo dos eutróficos.

Finalmente, a partir da análise dos marcadores inflamatórios por ELISA não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores encontrados nos dois grupos do estudo para nenhum das citocinas investigadas. Os valores de adiponectina tambem não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. Apesar disto, vale destacar que houve variação no número de sujeitos para os quais foi possível determinar os níveis séricos destes marcadores, conforme pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3: Variação nas concentrações séricas de interleucinas e TNF-$\alpha$ nas amostras analisadas no estudo.

| Marcador | Grupo | |
|---|---|---|
| | Obesos (n= 21) | Eutróficos (n= 13) |
| IL-1$\beta$ (pg/mg de proteína) | | |
| | (n= 13) $\leq$ 3,00 | (n= 4) $\leq$ 3,00 |
| | (n= 08) 3,61 - 123,09 | (n= 9) 4,27 - 152,99 |
| IL-10 (pg/mg de proteína) | | |
| | (n= 09) $\leq$ 30,00 | - |
| | (n= 12) 30,72 - 319,19 | (n= 13) 30,72 - 736,38 |
| IL-6 (pg/mg de proteína) | | |
| | (n= 20) $\leq$ 30,00 | (n= 8) $\leq$ 30,00 |
| | (n= 1) 39,92 | (n= 5) 10,71 - 53,36 |
| TNF-$\alpha$ (pg/mg de proteína) | | |
| | (n= 09) $\leq$ 15,00 | - |
| | (n= 12) 18,78 - 502,51 | (n= 13) 15,91- 1.174,12 |

# 5. DISCUSSÃO

O diagnóstico nutricional na infância, utilizando o IMC é importante e uma vez identificadas como obesas estas crianças merecem atenção especial, pois de acordo com Papandreou e colaboradores (2017) que estudaram crianças ao entrar na escola aos 5-6 e as acompanharam até os 14-15 anos, apenas 7,3% dos obesos identificados entre 5-6 anos de idade mudaram sua caracterização para eutróficos durante a infância ou adolescência[86]. Isto nos leva a considerar que grande parte destas crianças continuarão obesas, com toda carga de comorbidades que podem advir deste fato. Dentro dos grupos não houve diferença estatisticamente significativa entre os sexos, provavelmente pela idade e estágio pré puberal das criancas[74].

A circunferência da cintura mostrou aumento estatisticamente significativo no grupo dos obesos, o que era esperado por sua relação com a deposição de gordura visceral e o aumento do IMC. Aquelas com valores superiores ao P90 para idade e sexo (61,9%) apresentam maior risco para alteracões metabólicas como dislipidemia e hiperinsulinemia[36] e dada à baixa idade dos participantes deste estudo, torna-se preocupante.

A medida das pregas cutâneas tambem mostrou valores aumentados em 80,9% dos obesos o que já demonstra adiposidade excessiva[35] e com valores aumentados de forma estatisticamente significativa em relação ao grupo dos eutróficos onde nenhuma criança apresentou valores superiores ao P90 para este parâmetro.

A dosagem de insulina em jejum foi elevada de forma estatiscamente significativa no grupo obesos, muito embora criança nenhuma tenha atingido níveis clínicos para diagnóstico de hiperinsulinemia. Isto está em concordância com outros autores, embora alguns tenham observado valores mais elevados[70,74,87]. Chandrasekhar e colaboradores (2014), trabalhando com crianças indianas de 7 a 17 anos achou Homa-ir significativamente aumentado no grupo de obesos embora não houvesse diferença significativa nos níveis de glicemia de jejum[70]. Ferreira e colaboradores (2007), trabalhando apenas com crianças paulistas, obesas, de 7 a 10 anos também acharam valores de insulina bem superiores aos do presente estudo[88]. Mantovani e colegas (2016), trabalhando com crianças de 6-18 anos divididas em grupos de eutróficos, sobrepeso e obesidade dosaram insulina elevada, porém sem

diferenças significativas entre os grupos, o que tambem aconteceu com seus valores de Homa-ir e glicose em jejum[89]. O aumento da insulina é um evento inicial que já denota dificuldade dos tecidos alvo em responder à ação da insulina e então maior dificuldade de entrada de glicose nas células[14]. O índice Homa-ir (que depende diretamente dos valores de insulina) e a glicemia de jejum não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos. Nenhuma criança apresentou índice Homa-ir superior ao valor de corte para diagnóstico de resistência à insulina o que foi diferente do autores citados anteriormente[68,70,91]. Isto pode ser parcialmente explicado pela faixa etária dos componentes do estudo – todos com 8 anos. Em outros estudos na maioria das vezes estavam inclusas crianças de até 18 anos, o que gera um tempo maior de exposição à obesidade além de um possível percentual de gordura corporal aumentado. No estudo de Mantovani e colaboradores (2016) havia apenas 6 obesos pré púberes[89].

Apenas duas crianças apresentaram glicemia de jejum discretamente aumentada, o que concorda com Weiss e colaboradores (2004), que declarou que este distúrbio é muito raro em crianças, mesmo acima do peso[90]. Em vários outros estudos onde se verificou insulinemia aumentada a glicemia permaneceu em valores normais[70,90,91]. Caballero e colaboradores (2008) trabalharam com crianças hispânicas com idades entre 10 e 18 anos e também não viram diferenças significativas de glicemia de jejum entre eutróficos e obesos, embora insulina e índice Homa-ir estivessem alterados[92]. A manutenção da glicemia normal permanece enquanto o pâncreas consegue aumentar a secreção de insulina como mecanismo compensatório à resistência insulínica. Este estado se mantem por algum tempo, até que se observa uma queda na secreção da insulina e então uma diminuição da tolerância à glicose[14].

No presente estudo os valores séricos de CT não mostraram diferença estatística significativa entre os grupos. Embora 65% dos obesos tenham apresentado valores compatíveis com diagnóstico de dislipidemia, 46% dos eutróficos também apresentaram esta mesma alteração. Embora isto possa ser explicado pela etiologia familiar da dislipidemia, independente do estado nutricional do indivíduo, discorda de outros autores que encontraram níveis mais elevados de CT nos grupos de obesos[51]. Os valores de HDL-c também não mostraram diferenças entre os grupos, o que discorda de outros autores[68,51,83]; por outro lado, Ferreira e colaboradores (2008), pesquisando crianças entre 7 e 11 anos, de Taguatinga-GO tambem não encontraram

diferença entre os grupos[14]. As crianças do presente estudo são muito jovens e tem todas a mesma idade, com menor tempo de exposição à obesidade, o que as diferencia de outros estudos onde adolescentes tambem foram incluídos. Além disto, nenhuma das crianças apresentou resistência à insulina o que seria um fator concorrente para redução do HDLc nos obesos.

Outro fator que pode ter colaborado para não diferenciação do HDL-c é que nossas crianças estão todas frequentando a escola próxima de suas casas e atendem às aulas de educação física duas a três vezes por semana além de estar numa idade onde ainda se ocupam bastante com brincadeiras de correr, pular e se movimentar bastante, o que se diferencia um tanto dos adolescentes e mantem uma quantidade mínima de exercício o que pode incrementar o HDL-c.

Os marcadores inflamatórios tradicionais, IL-6, IL-1$\beta$, IL-10 e TNF-$\alpha$ não mostraram diferenças estatisticamente significativas, o que concordou com Landgraf e colegas (2015), que trabalharam com 171 crianças da coorte de Leipzig, de 0 -18 anos, também não observaram alterações nas concentraçoes séricas de IL-6 e TNF-$\alpha$[94]. A IL-6 também não mostrou alteração nos trabalhos de Caballero e colaboradores (2008)[92] e no de Valle e colaboradores (2007)[93], ambos com crianças hispânicas. Tam e colegas (2010), trabalharam com crianças dosando as citocinas aos 8 e aos 15 anos e também não encontraram elevação estatisticamente significativa no primeiro momento. Porém, quando estas mesmas crianças atingiram a idade de 15 anos e foram novamente analisadas, foi possível observar aumento estatisticamente significativo de IL-6, IL-8 e IL-10, ainda associadas com o sexo feminino[94].

Guedes e colaboradores (2015) fizeram uma revisão bibliográfica analisando 21 artigos que avaliaram a relação entre aumento dos níveis séricos destes marcadores e obesidade infantil. Nesta revisão constatou-se que 73,3% dos estudos mostravam aumento de IL-6 e em 80% deles observou-se aumento de TNF-$\alpha$[52]. Giordano e colegas (2011) encontraram valores significativamente aumentados de PCR-us e TNF-$\alpha$ em crianças italianas obesas em relação a controles eutróficos, com 9 a 16 anos de idade[51] e também observaram valores de adiponectina estatisticamente menores em crianças obesas do que em crianças eutróficas[52], sendo que este dado não foi confirmado no presente estudo.

Do nosso ponto de vista, o fato de não terem sido observadas diferenças estatisticamente significantes na concentraçao sérica de interleucinas, TNF-$\alpha$ e

adiponectina entre os grupos do presente trabalho pode ser decorrente da idade das crianças avaliadas neste estudo, que foi bastante homogênea e precoce em relaçao aos demais estudos discutidos anteriormente. Isto porque, a maioria dos estudos mencionados anteriormete que avaliaram estes marcadores em crianças, normalmente trabalharam com uma faixa de idade mais ampla, envolvendo também sujeitos pré-adolescentes e/ou adolescentes. Desta forma, é possível que as alterações observadas para os marcadores metabólicos observadas no presente estudo seja uma etapa inicial do processo de inflamação que vai se amplificando durante o tempo de exposiçao a obesidade, até que mudanças mais significativas possam ocorrer no organismo do indivíduo, com consequentes modificações dos níveis séricos de mediadores inflamatórios.

A PCR-us esteve estatisticamente aumentada no grupo dos obesos, com valores já sugestivos de baixo grau de inflamação crônica. Este dado é compatível com o aumento estatístico significativo da cintura abdominal, uma vez que a PCR-us está diretamente ligada ao aumento da gordura visceral. Isto é citado pela maioria dos autores e como a PCR-us tem envolvimento direto em vários estágios da formação de placas ateromatosas é considerada um preditor independente de risco cardiovascular[50]. De forma preocupante este marcador aparece de forma precoce, visto que Carmona-Montesinos e colaboradores (2015), identificaram valores aumentados de PCR-us em crianças de 3 a 5 anos[56]. Landgraf (2015)[95] encontraram alterações funcionais no tecido adiposo de crianças obesas de 6 anos associado a elevação dos níveis de PCR-us. Outro fator associado ao aumento da PCR-us é a composição da dieta, pois dietas com elevado teor de doces, adoçantes sintéticos e acidos graxos saturados aumentam a PCR-us em crianças obesas[56].

O hemograma completo foi feito em todas as crianças visando surpreender alguma alteração infecciosa que pudesse ter passado desapercebida entre a entrevista médica e a coleta do sangue para exames, o que poderia alterar valores de citocinas e PCR-us, mas todos eles se mostraram normais.

Este estudo tem limitações especialmente devidas ao fato de ser um estudo transversal, com tamanho de amostra reduzido, que não nos permite extrapolar os resultados. Por outro lado, o fato destas crianças estarem vinculadas à coorte Brasil-Sul é um passo inicial que pode permitir acompanhamento longitudinal das mesmas futuramente.

# 6. CONCLUSÕES

Estes resultados mostram que as crianças de 8 anos deste estudo, classificadas como obesas com base no IMC já apresentam alterações estatisticamente significativas de excesso de adiposidade, demonstradas pelo aumento da circunferencia de cintura e das pregas tricipitais, aumento de insulina em jejum e sinais de baixo grau de inflamação crônica, embora ainda não apresentem alterações dos valores de IL-6, IL-1$\beta$, IL-10 , TNF-$\alpha$ ou adiponectina.

Estas alterações já permitem pensar que estas crianças, mesmo tão jovens, já iniciaram uma trajetória disfuncional e que apresentam maior risco para desenvolver comorbidades associadas à obesidade e que a identificação destes marcadores é uma ferramenta útil nesta faixa etária. Isto leva à consequente demanda de atenção especial que estas crianças devem receber em relação à nutrição, exercícios e acompanhamento médico regular, visando reverter ou minizar os danos que a obesidade prolongada pode provocar.

Mais estudos são necessários, principalmente se houver possibilidade de acompanhar os mesmos sujeitos de pesquisa de forma a verificar se e quando apresentarão alterações em outros marcadores inflamatórios e metabólicos, além de extender o estudo a todos os obesos da coorte Brasil-Sul de forma longitudinal.

# REFERÊNCIAS


1. WHO. Centro de prensa Obesidad y sobrepeso. *Enero*. 2014:1-5. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/.
2. Risk NCD, Collaboration F. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: A pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128·9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017;6736(17):1-16.
3. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argiropoulos G. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14(4):529-644.
4. Guilloteau P, Zabielski R, Hammon HM, Metges CC. Adverse effects of nutritional programming during prenatal and early postnatal life, some aspects of regulation and potential prevention and treatments. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60(SUPPL. 3):17-35.
5. Barker D, Eriksson J, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol*. 2002;31:1235-1239.
6. Lynch J, Smith GD. a Life Course Approach To Chronic Disease Epidemiology. *Annu Rev Public Health*. 2005;26(1):1-35.
7. Link BG, Phelan J, Phelan JO. Social Conditions As Fundamental Causes of Disease. 1995;35(1995):80-94.
8. Sippel C, Bastian R, Giovanella J. Processos inflamatorios na obesidade. *Rev atenção à saude*.
9. Ouyang S, Li W, Liu Z, Li Y, Li S, Wu J. Association between serum soluble tumor necrosis factor-α receptors and early childhood obesity. *Endocr J*. 2016;63(1):1-7.
10. Volberg V, Heggeseth B, Harley K, Huen K, Yousefi P, Davé V,et al. Adiponectin and leptin trajectories in mexican-american children from birth to 9 years of age. *PLoS One*. 2013;8(10):e77964.
11. Li RZ, Ma XY, Hu XF, Kang SX, Chen SK,Cianflone K,et al.Elevatedvisfatin levels in obese children are related to proinflammatory factors. *JPediatr*

*Endocrinol Metab*. 2013;26(1-2):111-118.

12. Breslin WL, Johnston C a., Strohacker K, Carpenter KC, Davidson TR, Moreno JP et al. Obese Mexican American Children Have Elevated MCP-1, TNF- , Monocyte Concentration, and Dyslipidemia. *Pediatrics*. 2012;129(5):e1180-e1186. 2477.
13. de Heredia FP, Gómez-Martínez S, Marcos A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proc Nutr Soc*. 2012;71(02):332-338.
14. Ferreira AP, Nóbrega O de T, França NM de. Associação do Índice de Massa Corporal e da Resistência à Insulina com Síndrome Metabólica em Crianças Brasileiras. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(2):147-153.
15. Whitaker RC, Pepe MS, Wright J a, Seidel KD, Dietz WH. Early adiposity rebound and the risk of adult obesity. *Pediatrics*. 1998;101(3):e5.
16. Macaulay EC, Donovan EL, Leask MP, Bloomfield FH, Vickers MH,Dearden PK et al. *J Dev Orig Health Dis*. 2014;5(6):398-407.
17. Skinner AC, Steiner MJ, Henderson FW, Perrin EM. Multiple markers of inflammation and weight status: cross-sectional analyses throughout childhood. *Pediatrics*. 2010;125(4):e801-9.

18- Finucane M, Stevens G, Cowan M, Goodarz D, Lin J K, Paciorek C et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-. *Lancet*. 2011;377(9765):557-567.

19- Ogden C, Carroll M, Lawman H, Fryar C d, Kruszon-Moran D, Kit K B et al. Trends in obesity prevalence among children and adolescents in the united states, 1988-1994 through 2013-2014. *Jama*. 2016;315(21):2292-2299.

20. World Health Organization. Plano de Ação para Prevenção da Obesidade em Crianças e Adolescentes Plano de Ação para Prevenção da Obesidade em Crianças e Adolescentes. 2014;66:1-36.

21 Edna MDM. Diagnóstico Da Obesidade Infantil. http://www.abeso.org.br/pdf/Artigo - Obesidade Infantil Diagnostico fev 2011.

22 IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística[Internet]. Santa Catarina. Palhoça. Estimativa da população. 2015. [acesso: em 2016 JUN 01]. Disponível em: http://www.cidades.ibge.gov.br.

23. De P, Grande R. Sul , Brasil Introdução Métodos Foi realizado um censo

escolar dos alunos matriculados nas instituições de ensino fundamental no Município de Feliz-RS ,. 2014;9(31):142-148.

24. Ronque ER V, Cyrino ES, Dórea VR, Serassuelor H, Galdi EHG, De Arruda M. Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares de alto nível socioeconômico em Londrina, Paraná, Brasil. *Rev Nutr*. 2005;18(6):709-717.

25 Silva LR, Stefanello JMF, Pizzi J, Timossi LS, Leite N. Aterosclerose subclínica e marcadores inflamatórios em crianças e adolescentes obesos e não obesos. *Rev Bras Epidemiol*. 2012;15(4):804-816.

26. Melzer MRTF, Magrini IM, Domene SMÁ, Martins PA. Fatores associados ao acúmulo de gordura abdominal em crianças. *Rev Paul Pediatr*. 2015;33(4):437-444.

27. Oliveira AM a De, Cerqueira EDMM, Oliveira AC De. Prevalência de sobrepeso e obesidade infantil na cidade de Feira de Santana-BA: detecção na família x diagnóstico clínico. *J Pediatr (Rio J)*. 2003;79(4):325-328.

28. Cardoso JL. Pressão arterial, crescimento alcançado e estado nutricional de crianças de seis e de dez anos de idade de escolas públicas de Florianópolis, Santa Catarina 2014:110.

29. Rosa LCD Incidência e efeito de práticas iniciais de alimentação e do peso ao nascer no sobrepeso:obesidade aos 6/7 anos de idade. 2017.

30 Spencer SJ. Perinatal programming of neuroendocrine mechanisms connecting feeding behavior and stress. *Front Neurosci*. 2013;7(7 JUN):1-13.

31. Aiken CE, Tarry-Adkins JL, Ozanne SE. Transgenerational Developmental Programming of Ovarian Reserve. *Sci Rep*. 2015;5:16175.

32 Bruce K, Hanson M. The developmental origins, mechanisms, and implications of metabolic syndrome. *J Nutr*. 2010;(5):648-652.

33. Brasil. Ministério da Saude. *Orientações Para a Coleta e Análise de Dados Antropométricos Em Serviços de Saúde : Norma Técnica Do Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN / Ministério Da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica.*; 2011.

34. Sant'Anna M, Priore S, Franceschini S. Métodos de avaliação da composição corporal em crianças. *Rev Paul Pediatr*. 2009;27(3):315-321.

35. Frisancho AR. Anthropometric standards for assessment of growth and nutritional status. University of Michigan 1990 189p

36. Freedman DS, Serdula MK, Srinivasan SR, Berenson GS. Relation of

circumferences and skinfold thicknesses to lipid and insulin concentrations in children and adolescents: The Bogalusa Heart Study. *Am J Clin Nutr*. 1999;69(2):308-317.

37. Colaboradores. Avaliação Nutricional da Criança e do Adolescente: Manual de Orientação. *Soc Bras Pediatr*. 2009:112
38. Colaboradores. *Obesidade Na Infância e Adolescência: Manual de Orientação*.; *Soc Bras Pediatr.* 2012: 86.
39. Saito M. Brown adipose tissue as a regulator of energy expenditure and body fat in humans. *Diabetes Metab J*. 2013;37(1):22-29.
40. Moura V, Monteiro R. Papel do tecido adiposo na inflamação e metabolismo do doente obeso. *Rev Aliment Humana*. 2010;16(1):15-
41. Koiama S,IchikawaG, Kogima M, Sairenchi T, Arisaka O.Adiposity rebound and the development of metabolic syndrome. Pediatrics.2014; 133(1):e 114-9.
42. Rosaneli CF, Baena CP, Auler F, Nakashima ATA ,Neto-Oliveira ER,Oliveira AB et al. Elevated Blood Pressure and Obesity in Childhood: A Cross-Sectional Evaluation of 4,609 Schoolchildren. *Arq Bras Cardiol*. 2014:238-244.
43. McCrindle BW. Cardiovascular Consequences of Childhood Obesity. *Can J Cardiol*. 2015;31(2):124-130. doi:10.1016/j.cjca.2014.08.017.
44. Leite L, Rocha É, Neto J. Obesidade : uma doença inflamatória Obesity : an inflammatory disease. *Rev Cienc Saúde*. 2009;2:85-95.
45. Caruso C, Balistreri CR, Candore G. The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases. *Mediators Inflamm*. 2010;2010.
46. Johnson AR, Milner JJ, L M. The inflammation highway: metabolism accelerates inflamamatory traffic in obesity. *Immunol Rev*. 2012;249(1):218-238.
47. Lago F, Gómez R, Gómez-Reino JJ, Dieguez C, Gualillo O. Adipokines as novel modulators of lipid metabolism. *Trends Biochem Sci*. 2009;34(10):500-510.
48. Patel PS, Buras ED, Balasubramanyam A. The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *J Obes*. 2013;2013.
49. Guedes JM. Marcadores inflamatórios, exercício físico e obesidade infantil: uma revisão . 2016:290-297.
50. Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;314(1):1-16.

51. Miraglia F, Mello ED De. Como avaliar o processo inflamatório em crianças com excesso de peso ? How to evaluate the inflammatory process in children with excess weight ? *Rev HCPA*. 2012;32(3):332-339.

52. Giordano P, Del Vecchio GC, Cecinati V, Delvecchio M, Altomare M, DePalma F et al. Metabolic, inflammatory, endothelial and haemostatic markers in a group of Italian obese children and adolescents. *Eur J Pediatr*. 2011;170(7):845-850.

53. Guedes JM, Neto JBM, Santos J de FX dos, Cândido RF, Andaki ACR, Mendes EL. Concentrations of IL-6, TNF-α and MCP-1 in children with excess of body mass. *Abcs Heal Sci Cs*. 2013;38(3):133-141. and adolescents. *Eur J Pediatr*. 2011;170(7):845-850.

54. Bugge A, Hermansen BE-N, Froberg K, Al E. Longitudinal relationship between inflammatory markers in adolescents and childhood fatne

55. Volp ACP, Alfenas R de CG, Costa NMB, Minim VPR, Stringueta PC, Bressan J. Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab 2008; 52/3537-549*. 2008;52(3):537-549.

56. Madeira IR, Carvalho CN, Gazolla FM, Pinto LW, Borges MA, Bordallo MA. Impact of obesity on metabolic syndrome components and adipokines in prepubertal children. *J Pediatr (Rio J)*. 2009;85(3):261-268.

57. Kartman Lii S..— To determine the value of high-sensitivity C-reactive protein ( hs-CRP ) in predicting risk factors for coronary heart disease ( CHD ) in years ) with risk factors for CHD ( hypercholesterolemia , hypertens. Heart and Blood Vessels / 215 Aim 2007:215-216.

58. Carmona-Montesinos E, Ruiz-Fragoso Z, Ponce-Hinojosa G, Rivas-Arancibia S. Changes in C-Reactive Protein and Biochemical Profile in Preschool Children With Obesity. *Nutr Hosp*. 2015;32(n04):1548-1553.

59. Rodríguez A, Ezquerro S, Méndez-Giménez L, Becerril S FG. Revisiting the adipocyte: a model for integration of cytokine signaling in the regulation of energy metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;309(8):E691-714.

60. Kotnik P, Fischer Posovszky P, Wabitsch M. Endocrine and metabolic effects of adipose tissue in children and adolescents. *Zdr Varst*. 2015;54(2):131-138.

61. GM, Lord, G M, JK H, RJ B. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*. 1998;394(6696):897-

901.

62. Guimarães DED, Sardinha FLDC, Mizurini DDM, Tavares Do Carmo MDG. Adipocitocinas: Uma nova visão do tecido adiposo. *Rev Nutr*. 2007;20(5):549-559.

63. Bonatelo J, Chielle EO,Vogt Josiele,. Avaliação da concentraão sérica de resistina em obesos adultos joves: um estudo transversal Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento. 2009;5:94-101. http://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=4837941.

64. Barraco GM, Luciano R, Semeraro M, Prieto-Hontoria PL, Manco M. Recently discovered adipokines and cardio-metabolic comorbidities in childhood obesity. *Int J Mol Sci*. 2014;15(11):19760-19776.

65. Klusek-Oksiuta M, Bialokoz-Kalinowska I, Tarasow E, Wojtkowska M, Werpachowska I, Lebensztejn DM. Chemerin as a novel non-invasive serum marker of intrahepatic lipid content in obese children. *Ital J Pediatr*. 2014;40:1-7.

66. Melo ME De. Doenças Desencadeadas ou Agravadas pela Obesidade. http://www.abeso.org.br/pdf/Artigo - Obesidade e Doencas associadas maio 2011.pdf.

67. Gabbay M, Cesarini PR, Dib S a. Diabetes melito do tipo 2 na infância e adolescência : revisão da literatura. *J Pediatr (Rio J)*. 2003;79(3):201-208.

68. Mokha JS, Srinivasan SR, Dasmahapatra P, et al. Utility of waist-to-height ratio in assessing the status of central obesity and related cardiometabolic risk profile among normal weight and overweight/obese children: the Bogalusa Heart Study. *BMC Pediatr*. 2010;10(1):73.

69. Ferreira AP, Oliveira CER, França NM. Metabolic syndrome and risk factors for cardiovascular disease in obese children: the relationship with insulin resistance (HOMA-IR). *J Pediatr (Rio J)*. 2007;83(1):21-26.

70. Zhao L, Fu Z, Wu J, Aylor KW, Barret EJ, Cao W et al. Inflammation-induced microvascular insulin resistance is an early event in diet-induced obesity. *Clin Sci (Lond)*. 2015;129(12):1025-1036.

71. Chandrasekhar T, Suchitra MM, Sachan A, Bitla AR, Rao PVLNS. Original Article : Indices of insulin resistance in paediatric obesity. *J Clin Sci Res*. 2014;3:7-13.

72. Romualdo MCDS, De Nóbrega FJ, Escrivão MAMS. Insulin resistance in obese

children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2014;90(6):600-607.

73. Ferreira AP, Morais PP De. Prevalência de sobrepeso e obesidade em escolares de Taguatinga – DF Overweight and obesity prevalence in schoolchildren from Taguatinga – DF. 2008;26(2):161-166.
74. Batista de Silva J, De Melo E, Micussi MT, et al. Prevalência da síndrome metabólica nos estágios pubertários de escolares do sexo feminino. *Rev salud pública*. 2016;18(3):425-436.
75. Padilha P de C, Rocha HF da, Alves N, Peres WAF. Prevalência de doença hepática não-alcoólica em crianças e adolescentes obesos: uma revisão sistemática. *Rev Paul Pediatr*. 2010;28(4):387-393.
76. BruschinI, S.; Nery CAS. Aspectos Ortopédicos da Obesidade na Infância e Adolescência. *Obesidade na Infância e Adolescência*. 1995:105-125.
77. Mancini, C. Aloe, F. Tavarez, S. Obesidade R, Bras A, Metab E. Apnéia do Sono em Obesos. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2000;44(1):81-90.
78. Tam CS, Clement K, Baur LA, Tordjman J. Obesity and low-grade inflammation: A paediatric perspective. *Obes Rev*. 2010;11(2):118-126.
79. Fujiwara T, Oguni T, Unishi G, Tanabe T, Ohbayashi K, Kaneko K. Factors related to patterns of body mass index in early infancy: 18 month longitudinal study. *Pediatr Int*. 2014;56(3):406-410.
80. Olza J, Aguilera CM, Gil-Campos M, et al. Waist-to-height ratio, inflammation and CVD risk in obese children. *Public Health Nutr*. 2013;17(10):2378-2385.
81. Hayder AA, Faqih AA. Markers of subclinical atherosclerosis in schoolchildren with obesity and metabolic syndrome. *Swiss Med Wkly*. 2017;147(2122).
82. Jaleel A, Aheed B, Jaleel S, et al. Association of adipokines with obesity in children and adolescents. *Biomark Med*. 2013;7(5):731-735.
83. Lyra R, Oliveira M, Lins D, Cavalcanti N, Gross JL, Kupfer R et al.Diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2. *Diabetes Mellitus*. Vol 5.; 2003.
84. Cooke BR. Methods of enzymatic analysis (third english edition). *Biochem Educ*. 1988;16(3):183.
85. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101(4):01-22.
86. Alexandra P, Matthias B, Julia B, Kaspar S, David F. Individual development and potential determinants of excess weight in children and adolescents: a

longitudinal study. *Swiss Med Wkly*. 2017;147(3738).

87. Maggio ABR, Martin XE, Gasser CS, Gal-Duding C , Beghetti M, Farpour-Lambert N et al. Medical and non-medical complications among children and adolescents with excessive body weight. *J Pediatr (Versão em Port*. 2016;92(6):624-630.

88. Ferreira AP, Oliveira CER, França NM. Metabolic syndrome and risk factors for cardiovascular disease in obese children: the relationship with insulin resistance (HOMA-IR). J Pediatr (Rio J). 2007;83(1):21-26.

89. Mantovani RM, Rocha NP, Magalhães DM, Barbosa IG, Teixeira AL, Simões e Silva AC. Early changes in adipokines from overweight to obesity in children and adolescents. J Pediatr (R J). 2016; 92(6):624-630.

90. Weiss R, Djura J, Burgert TSl. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004;350:2362-2374.

91. Palhares H, Silva A, Resende D, Pereira G, Rodrigues-Júnior V, Borges M. Evaluation of clinical and laboratory markers of cardiometabolic risk in overweight and obese children and adolescents. *Clinics*. 2017;72(1):36-43.

92. Caballero AE, Bousquet-Santos K, Robles-Osorio L, Montagnani V, Soodini G, Porrammatikul S, Hamdy O, Nobrega ACL HE. Overweight Latino Children and. *Diabetes Care*. 2008;31(3):576-578.

93. Valle Jiménez M, Estepa RM, Camacho RMM, Estrada RC, Luna FG, Guitarte FB. Endothelial dysfunction is related to insulin resistance and inflammatory biomarker levels in obese prepubertal children. *Eur J Endocrinol.2007;156(4)497-502.*

94. Tam CS, Garnett SP, Cowell CT, Heilbronn LK, Lee JW, Wong M et al. IL-6, IL-8 and IL-10 levels in healthy weight and overweight children. *Horm Res Paediatr*. 2010;73(2):128-134. .

95. Landgraf K, Rockstroh D, Wagner I V, Weise S, Tauscher R, Schwartze JT, et al. Evidence of early alterations in adipose tissue biology and function and its association with obesity-related inflammation and insulin resistance in children. *Diabetes*. 2015;64(4):1249-1261.

# APÊNDICES

## APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

PROGRAMA DE POS GRADUAÇÃO EM
CIENCIAS DA SAUDE
UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP UNISUL
Cep.contato@unisul.br (48) 3279.1036

Seu filho(a) está sendo convidado para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar que ele(a) faça parte do estudo, rubrique todas as suas páginas deste documento, que está em duas vias e assine ao final. Uma das vias é sua e a outra é do pesquisador responsável, que também assinará e rubricará todas as vias.

**INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA**:

- Título do Projeto: Avaliação de marcadores inflamatórios e de sua associação com características de adiposidade e possível resistência à insulina em crianças obesas entre 6 e 7 anos integrantes da Coorte Brasil Sul.
- Pesquisador Responsável: Profª. Anna Paula Piovezan
- Telefone para contato: (48) 9938-2690
- E-mail para contato: anna.piovezan@unisul.br
- Outros Pesquisadores: Profª.: Milcia Almeida Zaidan
- Telefone para contato: (48) 98404-4944

Este é um estudo que tem por objetivo comparar marcadores inflamatórios em crianças obesas e com os valores apresentados em crianças não obesas da mesma idade, para o melhor entendimento dos fatores que causam esta condição.

Trata-se de uma que avaliará aspectos clínicos e de laboratório no sangue. Nestas análises, seu filho será pesado e medido em uma balança antropométrica e avaliado com uma fita métrica na região abdominal. Já para a análise de sangue, será necessária uma única coleta de sangue venoso (5 ml), a ser realizado por enfermeiro treinado no **Hospital Regional Homero de Miranda Gomes, em São José,** para ser encaminhado para exame laboratorial. A coleta se faz da seguinte maneira: punção venosa com a criança deitada e relaxada, após assepsia do local. Depois de coletado, o sangue será armazenado em freezer e os pesquisadores farão pesquisa de parâmetros como glicose, triglicerídeos e outros no mesmo.

De acordo com a Resolução 466/2012, toda pesquisa com seres humanos envolve riscos em tipos e graduações variados e que, quanto maiores e mais evidentes os riscos, maiores devem ser os cuidados para minimizá-los. Além disso, esta mesma resolução define como risco da pesquisa a possibilidade de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente. Sendo assim, os pesquisadores explicitam que a presente proposta prevê risco mínimo de dano à dimensão física dos sujeitos, uma vez que as medidas antropométricas previstas não são invasivas,

enquanto a coleta de sangue é minimamente invasiva. Além disso, estas análises serão realizadas em local que permite assistência total e imediata ao participante da pesquisa no que se refere às complicações e danos decorrentes da pesquisa, bem como a equipe de pesquisadores estará à disposição para tal assistência.

Os pesquisadores também não preveem possibilidade de dano às dimensões psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual dos sujeitos, uma vez que: a) as crianças estarão sempre acompanhadas de um responsável, b) a pesquisa será explicada às crianças por meio de termos compreensíveis para a idade no Termo de Assentimento Livre e Esclarecido, c) a pesquisa não introduz aspectos que deem margem à discriminação dos sujeitos de ordem racial, religiosa ou de outra natureza.

Finalmente, com relação a um possível risco de constrangimento por outras pessoas que possam ter conhecimento das informações oriundas da pesquisa, nesta proposta serão tomadas precauções necessárias para manter o sigilo e o anonimato do(a) seu(a) filho(a). Embora os pesquisadores não consigam identificar outros riscos, você poderá contar com o apoio do pesquisador responsável (telefone acima) em qualquer momento do período do estudo.

Com relação aos benefícios advindos do presente estudo, os mesmos serão indiretos, pela contribuição com a formação de profissionais médicos (estudantes de mestrado) que atendem crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade. Os resultados da pesquisa contribuirão para a elucidação das alterações na infância que podem levara a obesidade, possibilitando tratamentos futuros para este problema, entendendo-se assim que os riscos acima expostos se justificam pelo benefício esperado.

Os pesquisadores reforçam que todos os dados obtidos serão guardados em sigilo e que o responsável pela criança ou ela própria poderá recusar-se a tomar parte da pesquisa ou retirar o seu consentimento a qualquer tempo, sem penalidade alguma. É garantida a manutenção do sigilo e da privacidade dos participantes da pesquisa durante todas as fases da pesquisa, bem como é garantido que o participante da pesquisa receberá uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido. Sua participação é voluntária e sem custos para participar, bem como não haverá ressarcimento para a sua participação; contudo, explicitamos a garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa. Os participantes poderão solicitar o esclarecimento sobre a pesquisa a qualquer momento e poderão tomar conhecimento dos resultados desta pesquisa a partir de (01 Junho de 2018), período correspondente a conclusão da pesquisa, via pedido de e-mail (mencionados no início do documento). Após este período, inclusive, será feita a devolutiva dos resultados para os envolvidos, seja diretamente às crianças participantes, bem como respectivas Escolas.

_____
Profa. Anna Paula Piovezan, PhD,
Pesquisador responsável

_____
Milcia Almeida Zaidan
Pesquisador que coletou os dados

Eu, _____, abaixo assinado, concordo na participação do meu (minha) filho (a)_____ nesse estudo como sujeito. Fui informado(a)

e esclarecido(a) pelo pesquisador _____ sobre o tema e o objetivo da pesquisa, assim como a maneira como ela será feita e os benefícios e os possíveis riscos decorrentes da participação do meu (minha) filho (a). Recebi a garantia de que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto me traga qualquer prejuízo.

Nome por extenso: _____
Nome do(a) fiho(a) _____
RG: _____
Local e Data:_____
Assinatura: _____

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – Universidade do Sul de Santa Catarina
Avenida Pedra Branca, 25, Palhoça, Fone: (48) 3279-1036

## APÊNDICE B – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

https://image.freepik.com/vetores-gratis/jardim-de-infancia-criancas-desenho_23-2147501462.jpg

Nesta pesquisa a Dra. Milcia Zaidan, que é médica de crianças, vai dar orientações para você e para a pessoa que está lhe acompanhando sobre qualquer dúvida que vocês possam ter.

### Esta pesquisa vai ser assim:

1º. A Dra. Milcia vai pesar e mediar as crianças com uma balança

http://img.aws.ehowcdn.com/intl-620/ds-photo/getty/article/178/238/77290964.jpg

2º. A Dra. Milcia vai levar as crianças para que a enfermeira colete seu sangue

http://img.aws.ehowcdn.com/intl-620/ds-photo/getty/article/178/238/77290964.jpg

Estes exames são simples, quase não doem e você estará todo o tempo acompanhado de seu responsável e caso sinta medo ou não se sinta confortável, poderá nos falar ou desistir.
Além disso, depois dos exames se acontecer alguma coisa ou se precisarem falar conosco podem ligar para o número (48) 8404-4944 e a Dra. Milcia poderá lhe ajudar.

http://br.freepik.com/icones-gratis/telefone-auricular_755606.htm

Estes exames serão avaliados pela Dra. Milcia e os resultados servirão para saber se está tudo bem com a sua saúde e para comparar com os de outras crianças. Nós vamos guardar os resultados do seu exame e, se você precisar de algum tratamento, a Dra. Milcia vai entregar eles e conversar com seu médico ou sua médica.

http://i0.wp.com/catarinaaragon.com.br/wp-content/uploads/2015/04/esteto4.gi

Depois que a pesquisa terminar haverá uma reunião com todos que participaram para mostrar os resultados e isto vai ajudar a saúde de outras crianças.

http://www.crecheescolagrandini.com.br/avisos/reuniao-de-pais-educacao-infantil/

Se você concorda em participar, assine embaixo ou coloque a marca do seu dedinho nesta página.

_____

## CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Eu _____ aceito participar da pesquisa "Avaliação de marcadores inflamatórios e de sua associação com características de adiposidade e possível resistência à insulina em crianças obesas entre 6 e 7 anos integrantes da Coorte Brasil Sul".

Entendi tudo que vai ser feito na pesquisa. Entendi que posso dizer "sim" e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer "não" e desistir de participar sem nenhum problema.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com o(s) meu(s) responsável(is). Recebi uma cópia deste documento e concordei em participar da pesquisa.

_____

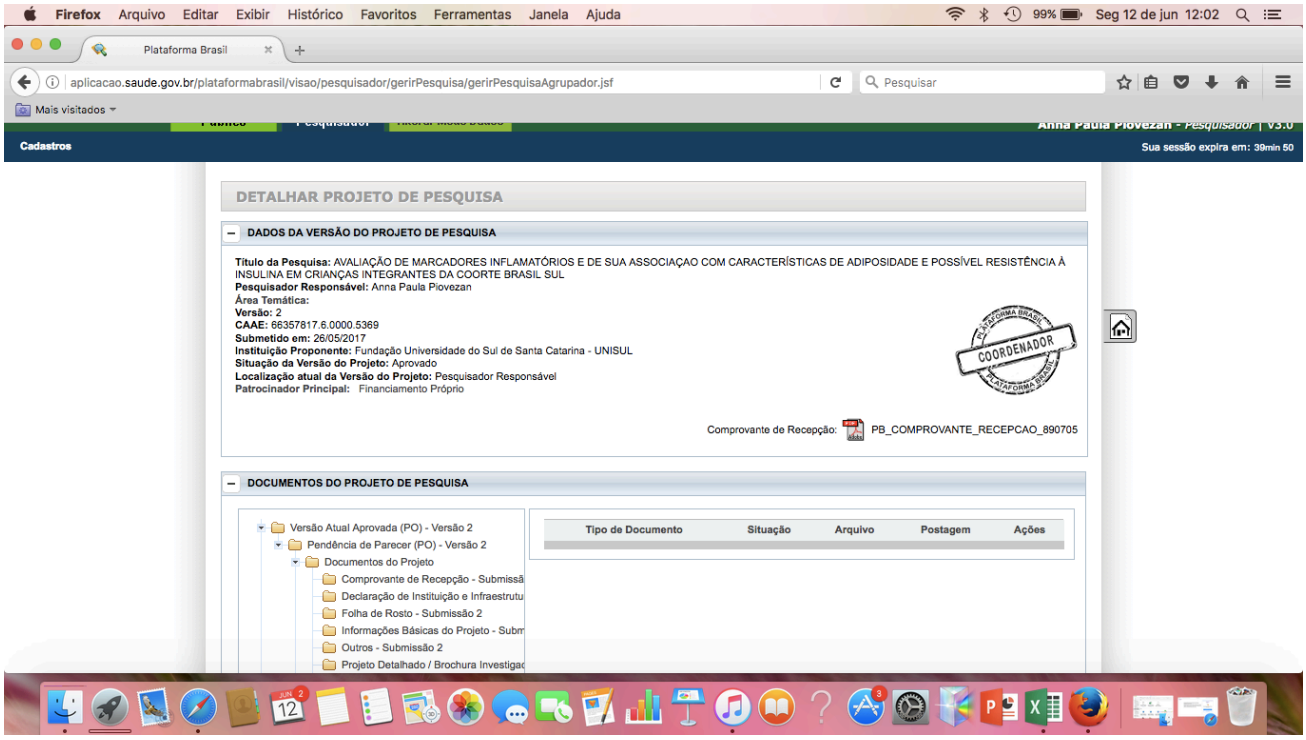
Assinatura do responsável

Assinatura da criança ou digital

## APÊNDICE C - Formulário do Sujeito da Pesquisa

| IDENTIFICAÇÃO |
|---|
| **Código de identificação na Coorte Brasil Sul:_____**<br>**Código de identificação neste estudo:_____** |
| Escola em que a criança estuda: |
| Nome completo da criança: |
| **ANTROPOMETRIA** |
| Data da avaliação: _____/_____/_____ |
| Peso:_____ Altura:_____ Circunferência abdominal:_____ |
| **MARCADORES LIPÍDICOS** |
| TG:_____ HDL:_____ Colesterol total:_____ |
| **MARCADORES METABÓLICOS** |
| Glicemia de jejum:_____ Insulina:_____ |
| HOMA: _____ |
| **MARCADORES INFLAMATÓRIOS** |
| IL-1β:_____ IL-6:_____ TNF-α:_____ |
| PCR-US:_____ |
| IL-10:_____ |

# ANEXO A - Comprovante de Aprovação do Projeto pelo CEP-UNISUL



Firefox Arquivo Editar Exibir Histórico Favoritos Ferramentas Janela Ajuda 99% Seg 12 de jun 12:02

Plataforma Brasil

aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil/visao/pesquisador/gerirPesquisa/gerirPesquisaAgrupador.jsf

Mais visitados

Cadastros

Anna Paula Piovezan - Pesquisador | v3.0

Sua sessão expira em: 39min 50

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS E DE SUA ASSOCIAÇAO COM CARACTERÍSTICAS DE ADIPOSIDADE E POSSÍVEL RESISTÊNCIA À INSULINA EM CRIANÇAS INTEGRANTES DA COORTE BRASIL SUL
**Pesquisador Responsável:** Anna Paula Piovezan
**Área Temática:**
**Versão:** 2
**CAAE:** 66357817.6.0000.5369
**Submetido em:** 26/05/2017
**Instituição Proponente:** Fundação Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL
**Situação da Versão do Projeto:** Aprovado
**Localização atual da Versão do Projeto:** Pesquisador Responsável
**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

PLATAFORMA BRASIL COORDENADOR PLATAFORMA BRASIL

Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_890705

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 2
  - Pendência de Parecer (PO) - Versão 2
    - Documentos do Projeto
      - Comprovante de Recepção - Submissã
      - Declaração de Instituição e Infraestrutu
      - Folha de Rosto - Submissão 2
      - Informações Básicas do Projeto - Subm
      - Outros - Submissão 2
      - Projeto Detalhado / Brochura Investigac

| Tipo de Documento | Situação | Arquivo | Postagem | Ações |
|---|---|---|---|---|