



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE
REGIONAL JATAÍ

**IMPACTO DA MICROBIOTA INTESTINAL SOBRE MARCADORES
DE ADIPOSIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM
CRIANÇAS: UMA CONTRIBUIÇÃO DA ADIPOCINA CHEMERIN**

Fernanda Ribeiro de Almeida

JATAÍ-GO

2017

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

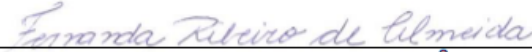
Nome completo do autor:

Título do trabalho:

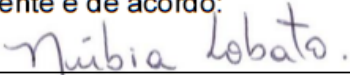
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 06 / 10 / 17

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFJ

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Jataí (UFJ) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFJ), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFJ é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

FERNANDA RIBEIRO DE ALMEIDA

3. Título do trabalho

IMPACTO DA MICROBIOTA INTESTINAL SOBRE MARCADORES DE ADIPOSIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM CRIANÇAS: CONTRIBUIÇÃO DA ADIPOCINA CHERMERIN

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **NUBIA DE SOUZA LOBATO, Orientador**, em 08/04/2022, às 14:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **FERNANDA RIBEIRO DE ALMEIDA, Professor do Magistério Superior Substituto**, em 26/04/2022, às 11:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufj.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0014072** e o código CRC **50E4208A**.

Referência: Processo nº 23854.002204/2022-53

SEI nº 0014072

FERNANDA RIBEIRO DE ALMEIDA

**IMPACTO DA MICROBIOTA INTESTINAL SOBRE MARCADORES
DE ADIPOSIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM
CRIANÇAS: UMA CONTRIBUIÇÃO DA ADIPOCINA CHEMERIN**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Goiás, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Núbia de Souza Lobato

Coorientador:

Prof. Dr. Fernando Paranaíba Filgueira

JATAÍ-GO

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Almeida, Fernanda Ribeiro de

Impacto da microbiota intestinal sobre marcadores de adiposidade e fatores de risco cardiovascular em crianças: uma contribuição da adipocina chemerin [manuscrito] / Fernanda Ribeiro de Almeida. - 2017.

91 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Núbia de Souza Lobato; co-orientador Dr. Fernando Paranaíba Filgueira.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Unidade Acadêmica Especial de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, Jataí, 2017.

Bibliografia. Anexos. Apêndice.

Inclui siglas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Obesidade infantil. 2. Microbiota intestinal. 3. Chemerin. I. Lobato, Núbia de Souza, orient. II. Título.

CDU 5



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
CAMPUS JATAÍ

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE

Rod. BR 364, km 192, n. 3800, Setor Industrial
75.801.615 – Jataí/GO- Brasil

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos seis dias do mês de setembro do ano de dois mil e dezessete às 14:00 horas no Auditório do Prédio da Pós-Graduação, Regional Jataí da Universidade Federal de Goiás, realizou-se a sessão pública de defesa de dissertação, intitulada “**IMPACTO DA MICROBIOTA INTESTINAL SOBRE MARCADORES DE ADIPOSIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM CRIANÇAS: CONTRIBUIÇÃO DA ADIPOCINA CHEMERIN**”, de autoria da candidata: **FERNANDA RIBEIRO DE ALMEIDA** - aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde, em nível de Mestrado. A Banca Examinadora foi constituída pelos professores: Prof.^a Dr.^a Núbia de Souza Lobato, Presidente. Prof.^a Dr.^a Fernanda Regina Casagrande Giachini Vitorino, membro externo e Prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos, membro interno. Foi concedido um prazo máximo de 30 dias, a contar da data de defesa o candidato a efetuar as correções sugeridas pela Comissão Examinadora e entregar o trabalho em redação definitiva, sob pena de não expedição do Diploma. E, para constar, foi lavrada a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão. Concluídos os trabalhos de apresentação e arguição, os membros da banca consideraram a aluna: (X) Aprovada () Reprovada

Banca Examinadora

Prof.^a Dr.^a Núbia de Souza Lobato
Presidente

Prof.^a Dr.^a Fernanda Regina Casagrande Giachini Vitorino
Membro externo

Prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos
Membro interno

FERNANDA RIBEIRO DE ALMEIDA

**IMPACTO DA MICROBIOTA INTESTINAL SOBRE MARCADORES
DE ADIPOSIDADE E FATORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM
CRIANÇAS: UMA CONTRIBUIÇÃO DA ADIPOCINA CHEMERIN**

Dissertação de mestrado apresentada à banca examinadora, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Goiás. Aprovada em 06 de setembro de 2017, pela banca constituída por:

Prof^a. Dr^a. Núbia de Souza Lobato
(Presidente da banca)

Prof^a. Dr^a. Fernanda Regina Casagrande Giachini Vitorino

Prof. Dr. Wagner Gouvêa dos Santos

JATAÍ-GO

2017

DEDICATÓRIA

*Aos meus amados pais Fernando e Cleoní,
e querida irmã Lorena,*

*por compreenderem a minha ausência e
apoiarem os meus sonhos, dedico à vocês este
fruto de um sonho como gratidão por terem me
proporcionado os degraus para chegar até aqui.*

Ao meu esposo, amigo e grande amor, Kleiber,

*por se interessar pelo meu mundo, sempre me
ajudar e me incentivar, dedico à você este
trabalho que tanto almejávamos.*

AGRADECIMENTOS

À Dr. Núbia de Souza Lobato, que me orientou nessa caminhada, dando suporte em todos os passos desse caminho, criando as possibilidades para o desenvolvimento dessa dissertação, obrigada por sempre instigar o melhor de mim. Ao meu coorientador Dr. Fernando Paranaíba Filgueira, pelo olhar avaliador que me despertou sempre a mostrar o meu melhor.

À escola, aos pais e às crianças voluntárias envolvidas, que proporcionaram tantos sorrisos durante a etapa de coleta de dados, além de importância essencial nos resultados desse estudo.

Os meus mais profundos agradecimentos ao Ms. Rafael Menezes por ter me acolhido, incentivado e auxiliado, obrigada pela paciência e por todos os ensinamentos. À Dr. Rita Tostes e ao seu Laboratório de Farmacologia Cardiovascular (Universidade de São Paulo), pela colaboração fundamental nas análises desenvolvidas.

À Polliana Conceição, à Laís Vania e ao técnico João Batista por todo auxílio prestado com tanta paciência e sem medir esforços.

Ao Kleiber, pela presença constante em meus projetos, e pelo auxílio fundamental no laboratório e em cada detalhe desde o início até essa versão final.

À FAPEG pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa.

Ao Deus eterno a minha gratidão imensurável, unida a uma frase sempre sensível à minha fé: “e quando você alcançar saberás que em todo o tempo Eu estive ao teu lado”.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

‘LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIGLAS

RESUMO

1 INTRODUÇÃO.....	18
1.1 Obesidade infantil.....	18
1.2 Processo inflamatório crônico na obesidade.....	20
1.3 Papel da microbiota intestinal no desenvolvimento da obesidade.....	22
1.4 Adipocina chemerin e obesidade.....	26
2 OBJETIVOS.....	30
2.1 Objetivo geral.....	30
2.2 Objetivos específicos.....	30
3 INDIVÍDUOS E MÉTODOS.....	31
3.1 Delineamento e população do estudo.....	31
3.1.1 Critérios de inclusão.....	31
3.1.2 Critérios de exclusão.....	31
3.2 Aspectos éticos.....	32
3.3 Coleta de dados.....	32
3.4 Instrumentos	33
3.4.1.1 Questionário social.....	34
3.4.1.2 Questionário alimentar.....	34
3.4.1.3 Questionário de atividade física.....	35
3.4.2 Medida da pressão arterial.....	35
3.4.3 Medidas antropométricas.....	36
3.5 Determinação dos parâmetros biológicos.....	37
3.5.1 Perfil lipídico.....	37
3.5.1.1 Determinação do colesterol sérico.....	37
3.5.1.2 Determinação de triglicerídeos séricos.....	38
3.5.1.3 Determinação sérica de lipoproteínas de alta densidade (High Density Lipoprotein – HDL).....	38
3.5.1.4 Cálculo da concentração sérica de VLDL e de LDL.....	38
3.5.1.5 Cálculo do índice aterogênico	38
3.5.2 Determinação das concentrações séricas de glicose.....	39

3.5.3	Determinação das concentrações séricas da adipocina chemerin.....	39
3.5.4	Análise da amostra fecal.....	40
3.6	Análise estatística dos dados.....	42
4	RESULTADOS.....	44
4.1	Caracterização da amostra.....	44
4.2	Consumo alimentar.....	45
4.3	Hábitos de atividade física e sedentária.....	45
4.4	Avaliação da pressão arterial sistêmica.....	46
4.5	Caracterização antropométrica.....	46
4.6	Avaliação do perfil lipídico.....	47
4.7	Avaliação dos níveis glicêmicos.....	49
4.8	Avaliação da composição da microbiota intestinal.....	49
4.9	Avaliação das associações entre a abundância relativa de bactérias intestinais e as variáveis antropométricas e cardiometabólicas.....	51
4.10	Associação entre níveis séricos de chemerin e as variáveis antropométricas e cardiometabólicas.....	51
4.11	Associação entre níveis séricos de chemerin e abundância relativa de bactérias.....	53
5	DISCUSSÃO.....	54
6	CONCLUSÃO.....	62
7	REFERÊNCIAS.....	63
8	APÊNDICE.....	69
9	ANEXOS.....	71

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma do recrutamento e etapas das coletas de dados do estudo.....	30
Figura 2 - Perfil lipídico das crianças, segundo o perfil nutricional.....	45
Figura 3 - Composição da microbiota intestinal, segundo o perfil nutricional.....	47
Figura 4 - Níveis de chemerin, segundo o perfil nutricional.....	49
Figura 5 - A - Abundância relativa de <i>Bacteroidetes</i> em cada tercil de níveis séricos de chemerin. B - Abundância relativa de <i>Bifidobacterium</i> em cada tercil de níveis séricos de chemerin.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Iniciadores utilizados para amplificação e identificação de bactérias.....	39
Tabela 2 - Distribuição da amostra segundo idade e gênero.....	41
Tabela 3 - Variáveis relacionadas ao nascimento e amamentação, segundo o perfil nutricional.....	42
Tabela 4 - Consumo alimentar segundo o perfil nutricional.....	86
Tabela 5 - Nível de atividade das crianças segundo o perfil nutricional.....	43
Tabela 6 - Avaliação da pressão arterial segundo o perfil nutricional.....	43
Tabela 7 - Distribuição das variáveis antropométricas segundo o perfil nutricional.....	44
Tabela 8 - Parâmetros de adiposidade e fatores de risco cardiovascular, segundo os níveis séricos de chemerin em tercis.....	49

LISTA DE SIGLAS

AAMI	<i>Association for the Advancement of Medical Instrumentation</i>
AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BLAST	<i>Basic local Alignment Search Tool</i>
CA	Circunferência Abdominal
CEP	Comitê de Ética em pesquisa
CMKLR1	<i>Chemokine-Like Receptor 1</i>
Ct	<i>Cycle threshold</i>
DNA	<i>deoxyribonucleic acid</i>
DEPC	<i>diethylpyrocarbonate</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
GLUT4	<i>Glucose transporter type 4</i>
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
IMC	Índice de Massa Corporal
IL	Interleucina
LAF	Lista de Atividades Físicas
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
NCHS	<i>National Center for Health Statistics</i>
NHANES	Nacional Health and Nutrition Examination Survey
OMS	Organização Mundial de Saúde

PACI	<i>Physical Activity Checklist Interview</i>
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RCQ	Razão Cintura-Quadril
rRNA	<i>Ribosomal ribonucleic acid</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TAB	Tecido Adiposo Branco
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGI	Trato Gastrointestinal
TLR	<i>Toll Like Receptor</i>
TNF- α	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>
VLDL	<i>Very Low Density Lipoprotein</i>
Σ DCTS	Somatório das Dobras Cutâneas Tricipital e Subescapular
Σ DCTP	Somatório das Dobras Cutâneas Tricipital e Panturrilha

RESUMO

A obesidade é uma doença inflamatória crônica multifatorial de incidência mundial e considerada uma das principais causas de morbidade e mortalidade em grande parte da população. Atualmente reconhece-se uma série de componentes fisiológicos e ambientais ainda pouco explorados e que parecem sobrepujar os fatores de risco tradicionais para a obesidade. Neste sentido, a microbiota intestinal foi recentemente proposta como um importante fator envolvido no ganho de peso e nas complicações associadas à esta condição. O desequilíbrio na proporção das bactérias da microbiota intestinal contribui para o aumento na produção de mediadores e citocinas pró-inflamatórias. Além das citocinas clássicas, uma nova citocina, denominada chemerin, foi recentemente identificada como um fator quimiotático para células do sistema imune. A concentração de chemerin no sangue está associada com componentes da síndrome metabólica, como os níveis de triglicerídeos no sangue e a pressão arterial sistêmica. No presente estudo, avaliou-se a associação de componentes importantes da microbiota intestinal com marcadores de adiposidade e fatores de risco cardiovascular clássicos em crianças. A influência da adipocina chemerin foi também investigada. Foram avaliadas 98 crianças com média de idade de 8,51 anos (dp= 0,86), distribuídas em dois grupos: controle (n=41) e com excesso de peso (n= 57). Foi aplicado o questionário social, o questionário alimentar e o questionário de atividade física. Além disso, foram realizadas medidas de pressão arterial, medidas antropométricas, coleta de sangue para avaliação do perfil lipídico, dos níveis glicêmicos e das concentrações de adipocina chemerin, e por fim, coleta de amostra fecal para determinação da abundância relativa de bactérias intestinais específicas. Não houve diferença estatística entre os dois grupos no que se refere à estrutura familiar, o consumo alimentar, o peso e o comprimento ao nascer. As crianças com excesso de peso apresentaram maior tempo despendido em atividades sedentárias e menor tempo em atividades físicas. Dentre as variáveis cardiometabólicas, observamos aumento nos níveis de pressão arterial sistêmica, nos níveis glicêmicos e nos componentes do perfil lipídico das crianças com excesso de peso. Foram observadas elevações na proporção de bactérias dos filos *Firmicutes* e na razão *Firmicutes/Bacteroidetes*, redução nos níveis do filo *Bacteroidetes* e, no que se refere ao gênero, baixas proporções de *Prevotella* e *Bifidobacterium*, nas crianças com excesso de peso. Em adição, observamos associação entre o gênero bacteriano *Bifidobacterium* e a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* com as

variáveis antropométricas. Crianças com sobrepeso ou obesidade apresentaram níveis elevados de adipocina chemerin quando comparados ao grupo controle. O índice de massa corporal foi maior no terceiro tercil de chemerin, quando comparado ao segundo tercil. A razão cintura quadril e a circunferência da cintura apresentaram-se maior no segundo e no terceiro tercil, quando comparados ao primeiro tercil. Além destes marcadores de adiposidade, os fatores de risco cardiovasculares: triglicerídeos e *Very Low Density Lipoprotein* apresentaram-se maiores no terceiro tercil em relação ao primeiro, e o log Triglicerídeos/*High Density Lipoprotein* mostrou-se aumentado no terceiro tercil em comparação com o segundo tercil. Em destaque, a abundância relativa de bactérias do filo *Bacteroidetes* e do gênero *Bifidobacterium* se mostrou reduzida no segundo e no terceiro tercil quando comparados ao primeiro. Os resultados obtidos neste estudo nos permitem concluir que as alterações na proporção de componentes da microbiota intestinal e a elevação dos níveis da adipocina chemerin estão associadas a fatores de risco cardiovasculares clássicos em crianças. A associação de fatores de risco cardiovascular clássicos e de alguns dos componentes da microbiota intestinal com os níveis da adipocina chemerin, nos permite sugerir que, as alterações na microbiota intestinal podem desencadear a liberação da citocina pró-inflamatória chemerin, exacerbando assim o aumento de peso corporal e aumentando os fatores de risco cardiovascular clássicos associados a esta condição.

Palavras-chave: Obesidade infantil; microbiota intestinal; chemerin.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Obesidade infantil

O avanço tecnológico atual induz a um estilo de vida sedentário, favorecendo o aumento da obesidade na infância, o que se torna preditor do aumento expressivo da obesidade na vida adulta, visto que cerca de 80% das crianças portadoras de obesidade se tornarão adultos obesos¹. A adiposidade corporal excessiva está associada à gênese de diversas doenças crônicas não transmissíveis, como diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, hipertensão arterial sistêmica e doença aterosclerótica. Essas complicações podem se manifestar ainda na infância, assumindo importância crescente na saúde pública mundial em decorrência de suas incapacitações e mortalidade precoce^{2,3}.

As consequências da obesidade infantil, adicionadas aos riscos de morbidade e mortalidade em adultos que foram obesos quando crianças, têm instigado a busca pelo entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na gênese desta condição. Visto que a obesidade na infância aumenta o risco de obesidade no futuro, considera-se que uma das formas mais eficientes de se prevenir a obesidade na vida adulta é através de intervenções durante a infância^{2,3}.

Diante de sua crescente epidemia e suas vastas consequências, a Organização Mundial de Saúde (OMS) aborda a obesidade infantil como um problema global considerado uma prioridade de saúde pública. No ano de 2009, uma em cada três crianças brasileiras se apresentavam com excesso de peso. Esse dado foi obtido na última pesquisa de orçamentos familiares, revelando ainda que no ano de 1989, a quantidade de crianças do sexo masculino que apresentavam sobrepeso se concentrava em 15%, elevando para 34,8% no ano de 2009. Já o número de obesos passou de 4,1% para 16,6%, o equivalente a um aumento maior que 300%. No sexo feminino, o aumento ocorreu de 11,9% para 32% de meninas com sobrepeso, abrangendo o mesmo período. O índice de obesidade em crianças do sexo feminino passou de 2,4% para 11,8%. Além disso, a pesquisa revela crescimento significativo do sobrepeso e da obesidade em todas as idades, classes e regiões, tanto em situação urbana como rural, sendo que o excesso de peso em crianças com idade entre cinco e nove anos teve destaque, por apresentar crescimento de forma mais acelerada comparado com as demais faixas de idade⁴. Considerando a população infantil mundial, no

ano de 2010, o número de crianças menores de cinco anos com excesso de peso, era maior que 42 milhões, sendo 35 milhões residentes de países em desenvolvimento⁵.

Em virtude da variação na distribuição da adiposidade corporal durante o crescimento, a classificação clínica do sobrepeso e da obesidade em crianças difere com a idade e o estágio de maturação sexual¹¹. Para aferição do índice de massa corporal (IMC) nessa faixa etária são habitualmente utilizadas curvas americanas de IMC do Centro Nacional de Estatística em Saúde (*National Center for Health Statistics - NCHS*), específicas para cada sexo, que consideram como diagnóstico de sobrepeso e obesidade os percentis acima de 85 e 95, respectivamente. As curvas estabelecidas pelo NCHS são aceitas pela OMS, e no ano de 2009 foram adotadas pela Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição do Ministério da Saúde do Brasil^{4,12}.

As medidas da circunferência abdominal (CA) e da razão cintura-quadril (RCQ) refletem o conteúdo de gordura visceral, permitindo a identificação de portadores de obesidade do tipo central, visceral ou androgênica. Essa forma de obesidade apresenta elevado risco para o desenvolvimento de doença aterosclerótica, dislipidemia, resistência à insulina e hipertensão arterial sistêmica, condições que em conjunto caracterizam a síndrome metabólica. Tanto em adultos como em crianças, a medida da CA é o melhor parâmetro para diagnosticar obesidade central e para relacionar-se com risco metabólico^{8,9}. Em adultos, a OMS estabelece como ponto de corte para risco cardiovascular aumentado, medida de CA igual ou superior a 94 cm em homens e 80 cm em mulheres. Para a RCQ, os valores de corte são estabelecidos em 0,90 para homens e 0,85 para mulheres. Em crianças, não há definição de valores específicos¹⁰.

O aumento da incidência da obesidade tem levantado a questão de quais fatores estariam determinando esta epidemia. Dentre os mecanismos envolvidos, têm prevalecido os fatores genéticos, nutricionais e hormonais. Estima-se que os fatores hormonais respondam por aproximadamente 10% dos casos de obesidade, e os fatores genéticos podem responder por até 40% na gênese de alterações no balanço energético, tanto no que tange à energia ingerida quanto à energia gasta, por determinarem diferenças em fatores como a taxa de metabolismo basal e a resposta ao alto consumo de calorias¹³. Contudo, evidências indicam que o aumento da prevalência da obesidade não pode ser explicado unicamente por hábitos nutricionais aliados à redução do gasto energético. Em estudo realizado entre indivíduos de uma mesma família, foi observado que alguns são menos susceptíveis ao ganho de peso e à hiperglicemia induzida pela dieta. Essa observação

sugere que outros mecanismos, além dos fatores genéticos, estão envolvidos na gênese da obesidade¹⁴.

Assim, um papel potencial dos fatores ambientais como o estilo de vida, o ambiente geográfico e os padrões alimentares, têm sido cada vez mais explorados na patogênese da obesidade, por existir uma interação gene - ambiente, que desencadeia um desequilíbrio no balanço energético.

1.2 Processo inflamatório crônico na obesidade

A obesidade é caracterizada pela presença de inflamação crônica de baixa intensidade, confirmada através da secreção elevada de citocinas pró-inflamatórias, da infiltração de células imunes, e da alteração da função de tecidos, em especial aqueles envolvidos na homeostase da glicose e no metabolismo de lipídios^{15, 16}. Neste sentido, destacam-se as citocinas produzidas pelo tecido adiposo, nomeadas como adipocinas, que são conhecidas por promover grande impacto em diversas funções corporais, incluindo a imunidade, função endócrina, função metabólica e função cardiovascular, através da mediação entre a comunicação intracelular e intercelular por meio de receptores específicos. Na obesidade existe desequilíbrio na produção e liberação de adipocinas pró e anti-inflamatórias pelo tecido adiposo branco (TAB), de modo que as funções moduladas pelas mesmas podem ser prejudicadas¹⁶⁻¹⁸.

O TAB é o principal reservatório energético do organismo, responsável pelo armazenamento de lipídios na forma de triacilglicerídeos. Este tecido atua como um órgão endócrino multicelular complexo, composto principalmente por adipócitos, além das substâncias bioativas denominadas adipocinas. O estroma vascular do TAB contém células inflamatórias e metabólitos ativos, incluindo pré-adipócitos, fibroblastos, células endoteliais, células dendríticas, células T, mastócitos, granulócitos e macrófagos. Adicionalmente, podem-se isolar neste tecido células-tronco mesenquimais, que podem ser direcionadas para diversas linhagens celulares, incluindo miócitos, condrócitos, osteoblastos e adipócitos^{15,16}.

O TAB possui plasticidade aumentada, principalmente na infância, contribuindo para a rápida adaptação, em termos de número e volume de adipócitos, à deposição de nutrientes. A expansão do TAB que ocorre com o ganho de peso é acompanhada por

alteração na secreção de adipocinas, hipóxia, morte celular, infiltração de células imunes, desregulação no metabolismo, armazenamento de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ativação de vias de sinalização intracelulares que levam ao aumento da expressão de fatores de transcrição, como o fator de transcrição nuclear- $\kappa\beta$, que resulta diretamente no aumento da expressão de adipocinas e no recrutamento de macrófagos. Os macrófagos e os adipócitos residentes, não só contribuem para o estado de inflamação local no TAB, como estimulam sinergicamente a atividade inflamatória de ambos ^{2,15}.

O aumento da secreção de adipocinas pró-inflamatórias, incluindo o fator de necrose tumoral alfa (*Tumor necrosis factor alpha* - TNF- α), e a redução de adipocinas anti-inflamatórias, como a adiponectina, decorrentes do excesso de tecido adiposo, têm sido implicados no desenvolvimento da resistência à insulina hepática¹⁷. A resistência à insulina é definida como efeito diminuído da insulina sobre a captação, o metabolismo e o armazenamento de glicose, em virtude da diminuição da sensibilidade de tecidos periféricos à ação metabólica deste hormônio. Nesta condição, a captação de glicose estimulada pela insulina encontra-se diminuída no músculo esquelético e no tecido adiposo, além de haver prejuízo na supressão da produção de glicose hepática. As ações da insulina representam um papel central no acoplamento da homeostase metabólica à homeostase hemodinâmica. A resistência à insulina frequentemente associada ao acúmulo de tecido adiposo na obesidade contribui para uma série de alterações metabólicas, prejuízo da função endotelial e aumento da frequência e severidade de doenças cardiovasculares ^{15,22-24}.

O aumento do peso corporal está associado ainda com o aumento do número de pré-adipócitos. As adipocinas pró-inflamatórias têm efeitos prejudiciais na biologia dos pré-adipócitos, limitando a adipogênese, promovendo o acúmulo de lipídios e secretando níveis maiores de mediadores pró-inflamatórios como IL-6 e proteína quimiotática de macrófagos-1 do que os adipócitos ¹⁵. A capacidade reduzida para adipogênese é acompanhada de armazenamento de ácidos graxos livres, que promovem aumento da lipólise, com conseqüente elevação de triacilglicerídeos. Os ácidos graxos livres podem ainda desencadear estresse no retículo endoplasmático de adipócitos, hepatócitos e células- β -pancreáticas de indivíduos com excesso de peso, participando assim na gênese e manutenção do processo inflamatório crônico presente na obesidade ^{15,17,19}.

1.3 Papel da microbiota intestinal no desenvolvimento da obesidade

Diversos estudos clínicos e experimentais têm evidenciado claramente que a microbiota do trato gastrointestinal (TGI) possui papel importante na regulação do balanço energético e do peso corporal e tem influência no desenvolvimento e progressão da obesidade e de outras desordens metabólicas ²⁵.

O intestino do homem aloja aproximadamente 10^{14} bactérias, conhecidas coletivamente como microbiota ²⁷. A colonização do TGI pode ser iniciada de diferentes formas e sob diversas influências, sendo impactante o tipo de parto, seguido pelo período pós-natal, o tipo e a duração da amamentação. Assim, os lactentes apresentam maior variabilidade da composição microbiana, abrigando menos espécies com menor estabilidade, quando comparada à microbiota intestinal adulta. No entanto, entre dois e três anos de idade, o ecossistema intestinal se torna estável e comparável ao de um adulto ^{28, 29}.

A composição da microbiota do TGI pode sofrer modificações em situações específicas ao longo da vida. Indivíduos adultos podem ter variações na proporção das bactérias em consequência de alterações ambientais ou de estados patológicos. Fatores endógenos e exógenos como o uso de antibacterianos, as mudanças alimentares e o estresse podem provocar desequilíbrio da microbiota do TGI, a curto ou a longo prazo, alterando momentaneamente suas funções ²⁹.

As funções fisiológicas da microbiota intestinal são múltiplas e, em conjunto, garantem a homeostase do organismo. Estas funções podem ser antibacterianas, nutricionais e imunomoduladoras. A proteção antibacteriana intestinal acontece primariamente através da resistência à colonização, pelo efeito de barreira mecânica, que ocorre pela ocupação dos sítios de adesão celulares da mucosa, ligados por bactérias autóctones (próprias do intestino) ³⁰. A ação das bactérias intestinais sobre determinados nutrientes permite maior degradação e assim, melhor aproveitamento desses nutrientes. Isto ocorre com substratos não digeríveis que atingem o lúmen do cólon, tais como os polissacarídeos de plantas, que são fermentados pela ação das bactérias intestinais, formando AGCC absorvíveis pela mucosa. Estes constituem a principal fonte de energia das células do cólon e têm efeito trófico no epitélio intestinal, o qual favorece o desenvolvimento das microvilosidades que facilitam a absorção de nutrientes. A microbiota intestinal desempenha ainda um papel na síntese da vitamina K, na

biotransformação de ácidos biliares conjugados e na degradação de complexos a base de oxalato^{31,32}.

A função imune da microbiota do TGI é atribuída a receptores capazes de reconhecer fragmentos de bactérias e iniciar a resposta imune. Estes receptores são chamados receptores de reconhecimento padrão, e reconhecem moléculas específicas de agentes infecciosos, nomeadamente, padrões moleculares associados aos patógenos. Os receptores de reconhecimento padrão reconhecem os padrões moleculares associados a patógenos, atuando como mecanismo de identificação do que não é próprio do organismo, levando à ativação de uma cascata de reações intracelulares que promoverão a síntese de citocinas. As citocinas por sua vez atraem células responsáveis por gerar a resposta inflamatória e permitir o desenvolvimento da resposta imune adaptativa^{33,34}.

Alguns receptores de reconhecimento padrão são responsáveis pela fagocitose, e outros responsáveis pela sinalização que levará à produção de citocinas. Entre os receptores de reconhecimento padrão que podem desencadear a produção de citocinas está o receptor *toll-like* (*toll like receptor* - TLR). Foram identificados mais de dez tipos deste receptor, cada um com uma especificidade para diferentes padrões moleculares associados à patógenos. Os TLRs que reconhecem peptídeos e derivados lipídicos estão presentes na membrana celular, ao passo que aqueles que reconhecem fragmentos de DNA, estão localizados em endossomos intracelulares^{33,34}.

Os TLR2 e TLR4 ativam a resposta imune inata, com a liberação de citocinas e o recrutamento de células inflamatórias. O TLR2 reconhece antígenos e tem função como sinalizador do sistema imunológico, enquanto o TLR4 detecta principalmente lipopolissacarídeos (LPS). Nos obesos, os TLR4 permanecem ativados e o LPS elevado. Os LPS estão presentes em bactérias gram-negativas e são exemplos de padrões moleculares associados a patógenos, juntamente com o peptidoglicano, presente na parede celular de bactérias gram-positivas³⁴.

A colonização e a proliferação bacteriana são diminuídas no estômago e no intestino delgado, pois o ambiente é desfavorecido pela ação bactericida do suco gástrico, da bile e da secreção pancreática, assim como pelo intenso peristaltismo do intestino delgado. O íleo é uma região de transição bacteriana, entre a população reduzida de bactérias do jejuno e a densa microbiota do cólon. Neste último, as bactérias encontram condições favoráveis para sua proliferação devido à ausência de secreções intestinais, peristaltismo lento e abundante suprimento nutricional^{30,31,34}.

O cólon abriga a maioria dos microrganismos do TGI, o qual possui enorme população bacteriana, dominada por dois filios específicos, o filo *Bacteroidetes* e o filo *Firmicutes*, que juntos correspondem a 90% da microbiota do TGI. Dentre os gêneros agrupados nestes filios, os mais populosos são os gêneros *Bacteroides* e *Parabacteroides* (pertencente ao filo *Bacteroidetes*) e *Clostridium* (pertencente ao filo *Firmicutes*), abrigando cerca de quinhentas espécies com diversidade e potencial patogênico^{35, 36}. Em adição, alguns gêneros bacterianos são conhecidos por desempenhar papel protetor contra fatores de risco obesogênicos, entre eles o gênero *Prevotella*, pertencente ao filo *Bacteroidetes*, e o gênero *Bifidobacterium*, pertencente ao filo de bactérias gram-positivas denominado *Actinobacteria*^{37, 38}.

Estudos recentes demonstraram que a microbiota do TGI existente em obesos difere daquela presente em eutróficos. Tanto em modelos experimentais quanto em humanos, essa diferença foi atribuída a um desequilíbrio entre os principais filios de bactérias presentes no ecossistema intestinal, com menor proporção de bactérias pertencentes ao filo *Bacteroidetes* e maior proporção de *Firmicutes* no ecossistema intestinal de obesos³⁹⁻⁴³.

Ley e colaboradores, no ano de 2005, demonstraram alterações na composição da microbiota do TGI de camundongos geneticamente obesos, encontrando menor abundância de *Bacteroidetes*, e maior proporção de *Firmicutes*. Este último constituiu aproximadamente 90% da microbiota do TGI. Quando os camundongos obesos foram submetidos à dieta para perda de peso, a microbiota se tornou muito similar à dos camundongos eutróficos³⁹. Em amostras fecais de indivíduos adultos saudáveis, analisadas através de sequenciamento do gene do 16S rRNA, demonstrou-se a presença de aproximadamente 50 a 70% de *Firmicutes* em relação ao total de bactérias intestinais³¹. Xu e colaboradores (2012) quantificaram bactérias dos filios *Bacteroidetes* e *Firmicutes* em crianças com idade entre sete e treze anos, divididas em um grupo com sobrepeso e um grupo de crianças eutróficas. O estudo revelou uma redução significativa no número de *Bacteroidetes* nas amostras fecais de meninas obesas, mas não de meninos, quando estratificados por gênero³⁸.

Bacteroidetes são bactérias anaeróbicas gram-negativas com resistência biliar, que constituem mais de 25% da microbiota gastrointestinal de indivíduos magros. Estas bactérias absorvem e metabolizam polissacarídeos, e promovem absorção de monossacarídeos. Elas possuem em sua parede externa um lipídio, um grupo de oligossacarídeo e uma cadeia de polissacarídeo que funciona como um antígeno específico

da bactéria. Assim, o LPS é produzido continuamente no intestino através da degradação de bactérias gram-negativas e age como uma endotoxina que se liga a um complexo de receptores, promovendo a interação entre as proteínas intracelulares, resultando na ativação do fator nuclear- $\kappa\beta$, que migra para o núcleo das células de defesa, estimulando a transcrição de genes, que originam citocinas pró-inflamatórias, especialmente dos macrófagos³¹⁻³³.

Firmicutes são bactérias gram-positivas abundantes no intestino humano, que degradam polissacarídeos derivados de plantas e são responsáveis pelo metabolismo de substâncias específicas, incluindo em maioria a produção de AGCC como o butirato, e espécies que convertem lactato em butirato ou propionato. Estes são absorvidos no colón, onde cada um tem uma função específica. O butirato funciona como substrato energético do metabolismo celular do epitélio do cólon, enquanto o restante se dirige ao fígado, sendo utilizado como substrato na gliconeogênese e lipogênese, fundamentais para a formação de glicose e AGCC respectivamente^{33,44}.

Evidências sugerem que a relação entre a microbiota intestinal e a obesidade pode ser atribuída à produção de AGCC, os quais possuem propriedades pró-inflamatórias. Os carboidratos que não são digeríveis pelo organismo, são fermentados pelas bactérias intestinais e têm como produtos finais os AGCC. Estes são produzidos em altas quantidades por bactérias anaeróbias. Camundongos obesos produzem maior quantidade de AGCC através do aumento da fermentação de polissacarídeos da dieta, observando assim que o aumento da extração de energia pode contribuir para o excessivo ganho de peso em camundongos⁴⁵. Em adultos com excesso de peso, também foi demonstrado aumento nas concentrações de AGCC nas amostras fecais, associado ao aumento de bactérias do filo *Firmicutes* e redução no número de *Bacteroidetes*, quando comparados ao grupo de indivíduos magros³². As vias de sinalização inflamatórias podem ser estimuladas pelos AGCC, pois estes vão induzir a ativação do fator nuclear- $\kappa\beta$, promovendo maior produção de citocinas pró-inflamatórias e consequente desenvolvimento de um estado de inflamação crônica de baixa intensidade, favorecendo a adiposidade corporal^{32,34,45}.

1.4 Adipocina chemerin e obesidade

Além das adipocinas já conhecidas e com funções bem estabelecidas na literatura, foi descoberta recentemente, uma nova adipocina, denominada chemerin, também descrita como proteína de resposta ao receptor de ácido retinóico-2, ou gene induzido por tazaroteno-2. A pró-forma da proteína, pró-chemerin, é produzida principalmente por adipócitos, fibroblastos, mastócitos e células endoteliais e circula no plasma como um precursor inativo. Uma vez secretado, o pró-chemerin pode ser ativado, através da clivagem de seis resíduos de aminoácidos na sua porção C terminal ^{46, 47}.

A primeira evidência para a função biológica da adipocina chemerin surgiu através da identificação do receptor-1 para chemerin (*chemokine-like receptor 1* - CMKLR1), pertencente à família de receptores acoplados a proteínas G_i, com expressão em vários tipos de células envolvidas na imunidade inata e adaptativa, incluindo plasmócitos imaturos, mielóides, macrófagos e células *natural killers*. A primeira função reconhecida da adipocina chemerin, atuando através do CMKLR1, foi a quimiotaxia de células dendríticas e macrófagos, promovendo o recrutamento dessas células para órgãos linfóides e regiões de lesão tecidual ⁴⁷.

A chemerin é expressa principalmente em adipócitos maduros do TAB, com maior proporção em região de adiposidade visceral, mas também presente em outros tecidos, incluindo fígado, pâncreas, e pulmão, enquanto que o CMKLR1 é expresso em adipócitos e células do estroma vascular, tal como neutrófilos, macrófagos ativados e células dendríticas ⁴⁸. Em 2007, houve o primeiro relato de que chemerin e o CMKLR1 estavam fortemente expressos no tecido adiposo de modelos experimentais e em humanos, identificando chemerin como uma nova adipocina na sinalização autócrina e parácrina para diferenciação de adipócitos, atuando no recrutamento e ativação de células imunes e na expressão de genes de adipócitos envolvidos na homeostase de lipídios e glicose, tais como transportadores de glicose 4 (GLUT4), adiponectina e leptina ^{46, 47}. O chemerin atua também na indução da angiogênese, de tal modo que a elevação da expressão e secreção de chemerin durante a adipogênese poderia promover o crescimento do tecido adiposo por induzir a angiogênese e aumentar a vascularização do TAB ⁴⁹.

O aumento da expressão de chemerin nos adipócitos foi demonstrado em camundongos alimentados com dieta apresentando alto teor de gordura ⁴⁶. Nos seres humanos, tanto em adultos como em crianças, a elevação dos níveis sanguíneos de

chemerin foi claramente evidenciada na obesidade central, na síndrome metabólica, na hipertrigliceridemia, bem como em condições de redução dos níveis da citocina antiinflamatória adiponectina⁴⁹⁻⁵². Além disso, estudos realizados em crianças demonstraram correlação entre os níveis sanguíneos da adipocina chemerin e o IMC, a RCQ e a espessura da prega cutânea^{99,53}. Evidências demonstram ainda que os valores de chemerin, ajustados para idade, sexo e IMC, estão associados a algumas anormalidades cardiovasculares, como aumento da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD)^{46,47}.

Recentemente, os níveis de chemerin foram fortemente correlacionados com níveis de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , e proteína C reativa. Assim como as demais adipocinas pró-inflamatórias, níveis elevados da adipocina chemerin afetam a adiposidade, o metabolismo de adipócitos e a resposta inflamatória no tecido adiposo, tendo papel importante em alterações do metabolismo de glicose e lipídios^{52, 53}. Neste sentido, grande destaque tem sido atribuído ao papel de chemerin como um dos marcadores inflamatórios dos prejuízos no metabolismo da glicose e na resistência á insulina, assim como em doenças cardiovasculares⁵².

A atuação de chemerin na resposta imune através da ativação do receptor CMKLR1 em locais de inflamação torna plausível a relação entre chemerin e a inflamação. O envolvimento desta adipocina em processos inflamatórios foi observado primariamente em lesões psoriáticas. Desde então, começaram a surgir evidências de que a expressão de chemerin é um marcador para fases iniciais do desenvolvimento de lesões, e promove o recrutamento e ativação de células dendríticas plasmocitóides, que, uma vez ativadas, podem agravar a lesão e desencadear doença autoimune. Estas células são rapidamente recrutadas em lesões, expressando grande quantidade de *interferons* que sinalizam para a síntese de outras citocinas. Essa interação sugere que chemerin e seu receptor estão envolvidos no recrutamento de células imunes para a lesão e pode influenciar na relação entre os diferentes tipos de células responsáveis por controlar o início e a progressão da inflamação^{54,55}.

Os níveis circulantes de chemerin estão aumentados ainda em outras doenças inflamatórias, tais como na colite ulcerativa e na doença de Crohn. As doenças inflamatórias do intestino estão relacionadas a um prejuízo na resposta imune. Indivíduos portadores de doença de Crohn e de colite ulcerativa apresentaram níveis elevados de adipocina chemerin quando comparados aos grupos saudáveis^{56,57}. Há demonstrações de que as alterações decorrentes da inflamação do tecido adiposo de obesos são similares às

alterações que ocorrem na doença de Crohn, o que proporciona um melhor entendimento quanto ao aumento dos níveis de chemerin na fisiopatologia desta doença ⁵⁷.

A chemerin pode modular a resposta inflamatória e a sensibilidade à insulina também em doenças hepáticas. A doença hepática não-alcoólica é uma causa comum para doenças hepáticas crônicas que tem incidência aumentada em indivíduos portadores de obesidade, estando associada ainda à dislipidemia e resistência à insulina, sendo caracterizada por inflamação e eventual fibrose hepática. Estudo realizado por Kukla e colaboradores (2010), demonstrou altas concentrações de chemerin em portadores de doença hepática não-alcoólica, quando comparados a indivíduos saudáveis. Foi ainda observada a elevação dos níveis de chemerin na hepatite C crônica, doença caracterizada por alterações metabólicas causadas por adipocinas pró-inflamatórias ⁵⁸. Em adição, chemerin e o receptor CMKLR1 desempenham um papel importante em estados autoimunes, como no modelo experimental de doença desmielinizante autoimune, onde a deleção de CMKLR1 levou à menor incidência de doenças clínicas e histológicas graves e menor inflamação no sistema nervoso central. Como a ativação de CMKLR1 atua no recrutamento de macrófagos e estes exacerbam a resposta inflamatória, uma perda desse recrutamento, dependente de CMKLR1, pelo chemerin, poderia explicar as diferenças inflamatórias observadas ⁵⁹.

Estudo realizado por Ress e colaboradores (2010) sugere que a redução dos níveis de chemerin pode diminuir o recrutamento de macrófagos no tecido adiposo e reduzir assim a inflamação, o que explicaria os benefícios dos efeitos de manutenção ou progressão de perda de peso a longo prazo em pacientes que realizaram cirurgia bariátrica. Nesses pacientes, demonstrou-se que os níveis de chemerin se apresentaram significativamente reduzidos após, em média, dezoito meses de cirurgia, e observou-se correlação entre os níveis de chemerin e o IMC ^{60,63}.

A análise de chemerin em mulheres portadoras de síndrome do ovário policístico, uma endocrinopatia comum, associada com resistência à insulina, disfunção das células β pancreáticas, prejuízo na tolerância a glicose, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia e obesidade visceral, revelou que os níveis de chemerin também estão elevados no tecido adiposo subcutâneo e visceral dessas mulheres ⁶¹.

Elevados níveis da adipocina chemerin têm sido demonstrados ainda no desenvolvimento de aterosclerose. A presença de aterosclerose coronariana e aórtica foi positivamente correlacionada com a expressão de chemerin no tecido adiposo

pericoronariano e periaórtico, respectivamente. A aterosclerose é uma doença inflamatória progressiva, e o acúmulo de macrófagos na placa aterosclerótica correlaciona-se positivamente com a progressão da doença. Estudos sugerem que a produção de chemerin pelo tecido adiposo atua no desenvolvimento da aterosclerose de maneira parácrina, promovendo o recrutamento de macrófagos e influenciando assim a resposta inflamatória na placa aterosclerótica^{53,62}.

Em conjunto, as informações fornecidas acima evidenciam a importante atuação da adipocina chemerin no desenvolvimento e manutenção de processos inflamatórios, o que indica que esta adipocina possa promover uma ligação funcional entre a inflamação crônica na obesidade e os distúrbios relacionados a esta condição em adultos. Considerando que o desequilíbrio na composição da microbiota do TGI resulta no aumento da produção de mediadores e citocinas pró-inflamatórias, torna-se relevante avaliar a relação entre os níveis desta adipocina e as alterações da microbiota intestinal com fatores de risco cardiovascular na obesidade infantil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a associação da proporção de componentes da microbiota intestinal e dos níveis da adipocina chemerin com fatores de risco cardiovascular clássicos em crianças, e verificar a associação destes (bactérias intestinais e fatores de risco cardiovascular) com a adipocina chemerin.

2.2 Objetivos específicos

Para a consecução do objetivo geral, os seguintes objetivos específicos foram propostos:

- Caracterizar a amostra quando ao perfil clínico, antropométrico e nutricional;
- Determinar os níveis séricos de glicose, bem como o perfil lipídico;
- Quantificar a população total bacteriana, bem como os filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes*, e os gêneros *Bifidobacterium* e *Prevotella*, presentes na microbiota intestinal;
- Determinar os níveis séricos da adipocina chemerin.

3 INDIVÍDUOS E MÉTODOS

3.1 Delineamento e população do estudo

Trata-se de um estudo caso-controle, onde foram recrutados noventa e oito alunos que estavam frequentando regularmente as turmas do 2º ao 5º ano do ensino fundamental, de uma escola pública no município de Jataí, estado de Goiás. Os alunos recrutados apresentavam idade entre seis e dez anos, de ambos os sexos. A amostra foi determinada para conter dois grupos, que contrastavam em relação ao perfil nutricional: Grupo 1- eutróficas, representando o grupo controle; grupo 2: com sobrepeso ou obesidade, representando o grupo denominado excesso de peso. As crianças foram consideradas eutróficas quando o percentil se apresentou entre 5 e 85, com sobrepeso quando o percentil se apresentou entre 85 e 95, e com obesidade, quando o percentil se apresentou acima de 95, conforme definido pelas curvas de IMC do NCHS ¹².

3.1.1 Critérios de inclusão

O estudo foi realizado respeitando-se os seguintes critérios de inclusão:

- Faixa etária compreendida entre seis e dez anos;
- Alunos que tiveram sua participação autorizada pelo responsável legal, a partir do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A);
- Crianças não portadoras de doenças crônicas, como distúrbios endocrinológicos, ou com doença mental ou psicológica que poderia interferir na compreensão por parte do estudante ou na interpretação dos resultados.

3.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos da pesquisa os voluntários que apresentaram as seguintes características:

- Estudantes que estavam participando de outros protocolos de pesquisa;

- Crianças que faziam uso sistemático de medicamentos como: moduladores do metabolismo lipídico e hormônios;
- Crianças que fizeram uso de antibióticos duas semanas antecedentes as coletas;
- Crianças que apresentaram infecção severa, e/ou presença de dor abdominal, e/ou diarreia duas semanas antecedentes as coletas;
- Crianças que realizaram vacinação contra poliomielite um mês antecedente a coleta da amostra de fezes.

As informações referentes aos critérios de inclusão e exclusão foram obtidas a partir dos responsáveis legais.

3.2 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado (ANEXO I) pelo Comitê de Ética em pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Goiás (Parecer número 1.702.981/2016) e está de acordo com a resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde que regulamenta pesquisas envolvendo seres humanos.

A coleta dos dados foi realizada após aprovação pelo CEP e após a anuência do secretário da educação do município de Jataí-GO e do responsável pela instituição de ensino selecionada, e mediante TCLE dos responsáveis pelas crianças sorteadas para compor a amostra. A pesquisa manteve a privacidade dos voluntários em todas as etapas de coleta de dados (aplicação dos questionários, aferição da pressão arterial, realização das medidas antropométricas, e coleta do material biológico).

3.3 Coleta de dados

A coleta foi dividida em duas etapas (Figura 1). Na primeira etapa, foram coletados os dados para caracterização da amostra, realizados por membros da equipe integrante do projeto, os quais foram previamente treinados para a aplicação dos questionários, da pressão arterial e aferição das medidas antropométricas. Durante os procedimentos, cada voluntário ficou em uma sala reservada, separado dos demais, previamente preparada pelos

pesquisadores com o auxílio do coordenador da escola, visando resguardar a privacidade e reduzir a chance de qualquer tipo de constrangimento nos participantes da pesquisa.

Na segunda etapa foram coletadas as amostras de sangue, para obtenção de soro e plasma suficientes para a realização das dosagens. As coletas de sangue foram realizadas por um profissional biomédico com experiência comprovada em coletas de sangue, membro da equipe executora deste projeto. Neste momento foi entregue um manual de instruções (ANEXO II) para a realização da coleta da amostra fecal, juntamente com um par de luvas, uma espátula e um recipiente estéril para que, com o auxílio do responsável, fosse coletada uma pequena amostra de material fecal. O recipiente com o material foi recebido pela equipe em tempo pré-agendado com o responsável pela criança.

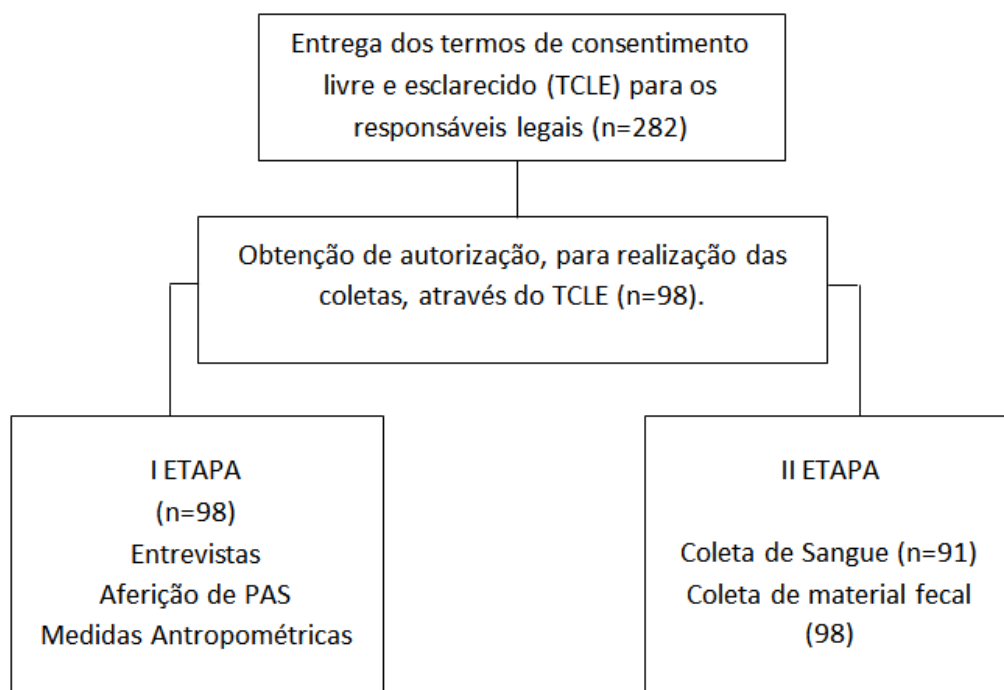


Figura 1. Fluxograma do recrutamento e etapas das coletas de dados do estudo.

3.4 Instrumentos

Os instrumentos foram aplicados por meio de entrevistas, visando melhorar a acurácia das informações.

3.4.1.1 Questionário social

Com o objetivo de caracterizar a amostra quanto aos aspectos socioeconômicos e demográficos, aplicamos o questionário social. Para o início das avaliações foram realizadas entrevistas por membros da equipe integrante do projeto, os quais foram previamente treinados. O questionário social (Anexo III) utilizou o “Critério de Classificação Econômica Brasil” que, através de um esquema de pontos, estima o poder de compra das famílias da criança dividindo-as em “classes econômicas” A1, A2, B1, B2, C, D e E com faixas de renda média variando de R\$ 207,00 a R\$ 7793,00. Trata-se de uma metodologia muito utilizada em estudos populacionais por estimar com certa precisão a renda familiar média, além de ser prática e rápida^{78,79}. Nesse protocolo foram inseridas perguntas sobre a escolaridade materna e sobre a estrutura familiar, esta última na forma de uma tabela na qual foram escritas quais são as pessoas que moram na casa, a idade e seu grau de parentesco com a criança. Além disso, foram incluídas informações que revelaram variáveis relacionadas ao nascimento e amamentação da criança, como idade da mãe ao nascimento, peso e comprimento ao nascer e tempo de amamentação exclusiva e total.

3.4.1.2 Questionário alimentar

Com o objetivo de conhecer o comportamento alimentar das crianças, foi realizado o questionário alimentar (Anexo IV), no formato de Inquérito de Frequência Alimentar, um método retrospectivo qualitativo, onde o entrevistado responde com que frequência cada item da lista é consumido em número de vezes, por dia, por semana, por mês, ano (raramente) ou nunca.

O questionário é composto por uma lista de alimentos (carnes, embutidos, derivados lácteos, frutas, verduras, massas, doces e alimentos industrializados) e bebidas¹⁰⁰. Os dados obtidos através deste questionário foram utilizados para conhecer a frequência de ingestão alimentar, e a diversidade da alimentação das crianças.

3.4.1.3 Questionário de atividade física

Com o objetivo de conhecer os níveis de atividade física e sedentária da amostra, foi aplicado o questionário sobre atividade física é uma versão brasileira adaptada do Questionário *Physical Activity Checklist Interview* (PACI), o PACI é um questionário para aferição de atividade física do dia anterior desenvolvido e validado por SALLIS e colaboradores (1996) para uso em crianças americanas ⁶⁴. CRUCIANI e colaboradores (2011), a partir de procedimento de adaptação transcultural, apresentaram a versão brasileira do PACI, denominada Lista de Atividades Físicas (LAF) (Anexo V) ⁶⁵.

O LAF é um questionário de atividade física do dia anterior, administrado por entrevista, específico para crianças em idade escolar, devendo ser utilizado em dias da semana, durante o período escolar. A partir de uma lista com vinte e um tipos de atividades físicas com intensidade de moderada a vigorosa, as crianças relatam o tempo de engajamento em atividades físicas realizadas por cinco minutos ou mais no dia anterior (antes, durante e depois da escola), indicando também a percepção de esforço.

O questionário possui um espaço para acrescentar outras atividades e questões sobre tempo assistindo TV, usando vídeo game e computador. Possui ainda uma seção final de avaliação da entrevista preenchida pelo entrevistador após o término da mesma e outra inicial, denominada Instruções para Entrevista, composta de instruções gerais sobre o preenchimento do instrumento e condução da entrevista, notas orientadoras para que o entrevistador avalie, informe e treine o participante sobre estimação do tempo de engajamento em atividades, definições sobre atividades físicas e sobre o questionário propriamente dito.

3.4.2 Medida da pressão arterial

A aferição da pressão arterial, assim como a interpretação dos resultados obtidos, obedeceu às recomendações norte-americanas publicadas em 2004 ⁶⁶. A pressão arterial das crianças foi aferida em posição sentada, sistematicamente em membro superior direito, sempre apoiado ao nível do coração, em ambiente tranquilo, após repouso de cinco minutos. Foi empregado um monitor de pulso, marca Omron, devidamente calibrado. Este aparelho apresenta precisão de 3 mmHg e é validado pelas normas da Associação para

Avanços na Instrumentação Médica (*Association for the Advancement of Medical Instrumentation* - AAMI), nos Estados Unidos e aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A avaliação da pressão arterial sistêmica foi realizada através de três aferições consecutivas, a intervalos de um minuto, sendo o valor final da pressão arterial o resultado da média aritmética da PAS e média da PAD.

A pré-hipertensão foi definida a partir de valores de PAS e/ou PAD iguais ou superiores ao percentil 90 e inferiores ao percentil 95 para idade, sexo e percentil de estatura. A hipertensão arterial pediátrica foi definida a partir de valores de PAS e/ou PAD iguais ou superiores ao percentil 95 para idade, sexo e percentil de estatura. Os percentis de 90 e 95 foram determinados cruzando-se na tabela de dados referenciais do estudo *Task Force* 2004 referente ao sexo do participante a linha correspondente à idade cronológica com a coluna correspondente ao percentil de estatura⁶⁶.

3.4.3 Medidas antropométricas

As medidas de peso foram realizadas em balança de plataforma, com capacidade máxima de 150 kg e graduação mínima de 100 g. As crianças foram pesadas em pé sobre a plataforma, descalças, com o mínimo de vestimentas possível e em posição firme com os braços ao longo do corpo.

A estatura foi determinada por meio de um antropômetro de campo com a escala de cm e a precisão de 1 mm. As crianças foram instruídas a ficar de costas para o instrumento, com os pés unidos e paralelos, a cabeça ereta com o olhar para frente e os cabelos soltos.

Os dados de peso e altura foram analisados de maneira a fornecer a avaliação do perfil nutricional das crianças. Foram empregados os índices de peso para altura expressos em escore-Z, adotando-se o padrão do NCHS e o percentil IMC segundo idade e sexo de acordo com padrão de referência Levantamento do Exame Nacional de Saúde e Nutrição II (*Nacional Health and Nutrition Examination Survey* – NHANES)¹².

As medidas de circunferências do braço, da cintura, do abdômen e do quadril foram obtidas com o auxílio de uma fita métrica inelástica e inextensível com graduação até 150 cm e mínima de 0,5 cm. A circunferência do braço foi aferida com os braços soltos ao longo do corpo, aplicando a fita métrica firmemente ao redor do braço no nível médio entre o processo acromial da escápula e o processo olécrano da ulna do braço não dominante. A

circunferência da cintura foi aferida aplicando a fita firmemente ao redor do ponto médio entre a borda inferior da caixa torácica e a crista ilíaca. A circunferência abdominal foi avaliada com o paciente de pé, ao final da expiração, no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca ântero-superior, com fita inelástica, em posição horizontal. A circunferência do quadril foi aferida aplicando a fita firmemente ao redor dos glúteos em sua extensão posterior máxima.

As pregas cutâneas tricipital, bicipital, subescapular e suprailíaca foram aferidas com um adipômetro (plicômetro) científico da marca *Prime Vision*, apresenta alta precisão e sensibilidade 0,1 mm com pressão constante. Todas as medidas foram realizadas do lado não dominante, pinçando a dobras com os dedos polegar e indicador, estando o adipômetro em posição perpendicular à prega¹⁰¹.

3.5 Determinação dos parâmetros biológicos

Todas as crianças passaram por coleta de sangue, realizada por um único profissional biomédico com experiência comprovada. As coletas foram realizadas no período matutino, entre as sete e oito horas. As crianças foram submetidas à privação alimentar de doze horas e amostras de 5,0 ml de sangue foram coletadas. Logo após a coleta de sangue foi oferecido suporte alimentar às crianças. O soro, separado por centrifugação a 3000 rpm, por 10 min, foi estocado em alíquotas, à -20°C, durante três semanas, e utilizado para as determinações descritas a seguir.

3.5.1 Perfil lipídico

3.5.1.1 Determinação do colesterol sérico

O colesterol total (em mg/dL) foi determinado de acordo com as instruções do fabricante do kit Colesterol *Liquiform* da empresa *Labtest*. Para a leitura utilizamos um espectrofotômetro semi-automatizado CELM SB190. Os valores de corte para os níveis lipídicos (ANEXO VII) foram determinados pela V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção de Aterosclerose⁶⁷.

3.5.1.2 Determinação de triglicerídeos séricos

Os triglicerídeos (em mg/dL) foram determinados de acordo com as instruções do fabricante do kit Triglicerídeos *Liquiform* da empresa *Labtest*. Para a leitura utilizamos um espectrofotômetro semi-automatizado CELM SB190.

3.5.1.3 Determinação sérica de lipoproteínas de alta densidade (*High Density Lipoprotein – HDL*)

As lipoproteínas de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein – LDL*) e as lipoproteínas de muito baixa densidade (*Very Low Density Lipoprotein – VLDL*) foram precipitadas seletivamente pelo ácido fosfotúngstico. No sobrenadante, separado por centrifugação, restaram as HDL, que foram determinadas de acordo com instruções do fabricante do kit Colesterol HDL *Liquiform* da empresa *Labtest*. Para a leitura utilizamos um espectrofotômetro semi-automatizado CELM SB190.

3.5.1.4 Cálculo da concentração sérica de VLDL e de LDL

A partir da concentração sérica de triglicerídeos, foram calculadas as concentrações de VLDL, utilizando o seguinte cálculo: $VLDL \text{ Colesterol (mg/dl)} = \text{Triglicerídeos (mg/dl)} / 5$. A partir da concentração de HDL e VLDL, foi calculada a concentração de LDL, utilizando o cálculo: $LDL \text{ Colesterol (mg/dl)} = \text{colesterol total (HDL colesterol + VLDL colesterol)}$.

3.5.1.5 Cálculo do índice aterogênico

O índice aterogênico é obtido através da divisão entre o valor de colesterol total e o HDL colesterol. O valor ideal é <5 , segundo as diretrizes da *American Heart Association*⁶⁸.

3.5.2 Determinação das concentrações séricas de glicose

A determinação das concentrações de glicose foi realizada de acordo com as instruções do fabricante do kit Glicose *Liquiform* da empresa *Labtest*. Para a leitura utilizamos um espectrofotômetro semi-automatizado CELM SB190. O valor de referência para a glicemia de jejum foi adotado com base nas Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, considerando-se glicemia normal de jejum os valores inferiores à 100mg/dl⁶⁹.

3.5.3 Determinação das concentrações séricas da adipocina chemerin

A concentração de chemerin no soro foi determinada de acordo com as instruções presentes no protocolo do kit *Duoset Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) development system – Human Chemerin (Biotechne brand, North America)*. Os reagentes foram preparados conforme orientação do kit e as microplacas, tampões, diluentes, substratos e soluções foram utilizadas conforme recomendado pelo kit. O tempo gasto desde a preparação de uma placa até sua leitura foi de dezessete horas e quarenta minutos.

O protocolo segue o método “ELISA Sanduíche”, sendo assim, o anticorpo de captura para um antígeno específico foi inicialmente adicionado ao poço, em seguida, a amostra com o antígeno foi adicionada se ligando a esse anticorpo. As amostras de soro do sangue das crianças foram diluídas em vinte vezes, resultando em um melhor desempenho da análise. Foram adicionados 100µl da amostra diluída em reagente diluente em cada poço, as análises foram realizadas em duplicata.

Na próxima etapa, adicionamos em cada poço, 100µl do anticorpo de detecção (específico para o antígeno) diluído em reagente diluente, e logo após uma quarta aspiração do conteúdo da placa, acrescentamos 100µl de um terceiro anticorpo que reage com o substrato adicionado gerando coloração: a Estreptavidina biotinilada conjugada com a enzima peroxidase de rábano. Após nova aspiração da placa foram acrescentadas 100µl de solução de substrato e 50µl de solução de parada da reação, resultando em uma nova coloração e finalizando o procedimento para realização da determinação da densidade óptica. Para a determinação, foi utilizado o espectrofotômetro *Celer Polaris*, modelo EE leitor de microplacas ELISA regulado à 450nm. Foi construída uma curva padrão com concentrações crescentes e conhecidas de antígeno, preenchendo sete poços em duplicata,

em cada uma das placas. A curva foi utilizada, como padrão de comparação, para deduzir as quantidades de antígenos presentes em cada poço.

Os valores obtidos em absorvância foram corrigidos através de uma curva de regressão não linear (em programa estatístico), que resultou no cálculo para obtenção da concentração das amostras, dado em logaritmo e após transformação em picogramas/mililitros, o valor foi convertido em nanogramas/mililitros e multiplicado pelo fator de diluição. Obtivemos assim os valores de chemerin em ng/ml.

3.5.4 Análise da amostra fecal

Noventa e oito crianças entregaram as amostras de material fecal. Dentre elas, cinco amostras foram excluídas com base nos critérios de exclusão, duas crianças, que fizeram uso de antibióticos duas semanas antecedentes as coletas, e três crianças, que apresentaram diarreia duas semanas antecedentes às coletas.

Foi entregue um manual de instruções para a realização da coleta da amostra fecal, juntamente com um par de luvas, uma espátula e um recipiente estéril para que a criança realizasse a coleta da amostra fecal. O responsável pela criança foi orientado a recolher a amostra e entregar à equipe do projeto em um prazo máximo de vinte e quatro horas. Houve controle do tempo pré-agendado através de ligações telefônicas por parte da equipe. O recipiente com o material foi recebido pela equipe em tempo pré-agendado com o responsável pela criança.

As fezes foram imediatamente homogeneizadas e armazenadas, em triplicata, em tubos de microcentrífuga de 2 ml, em quantidades entre 180-220 mg, e congeladas a -20°. Posteriormente, foi realizada a extração do DNA das amostras de fezes congeladas, utilizando kit de extração de DNA de fezes (*QIAamp DNA Stool Mini kit, Qiagen*). O processo foi realizado rigorosamente conforme instruções do fabricante.

O *QIAamp DNA Stool Mini Kit* simplifica o isolamento do DNA das fezes com um procedimento rápido utilizando colunas para a purificação. Os tampões otimizados e as enzimas lisam as amostras, estabilizam os ácidos nucleicos e aumentam a adsorção seletiva do DNA à membrana *QIAamp*. É adicionado álcool e os lisados são carregados na coluna de rotação *QIAamp*. Os inibidores de PCR são removidos pela ação combinada de InhibitEX e um tampão otimizado. É realizada lise com proteinase K, que garante alto

rendimento de todo o DNA comum nas fezes. As impurezas remanescentes são removidas em dois passos de lavagem proporcionando então o DNA pronto para amplificação, que é então eluído em tampão com baixo teor de sal.

Após a obtenção da concentração do DNA purificado, foi quantificada espectrofotometricamente, através do espectrofotômetro *EpochTM* para microvolumes, devidamente calibrado, na absorvância de 260 nm. A pureza foi determinada por cálculo da razão de absorvância a 260 nm pela absorvância a 280 nm, considerando que DNA puro possui uma razão A_{260} / A_{280} de 1,7-1,9, a acurácia das leituras situaram-se entre 0,1 e 1,0. 4 µg de cada amostra de DNA foi diluída em 10µl de água tratada com pirocarbonato de dietila (*diethylpyrocarbonate* – DEPC), para obter a quantidade de DNA, em µg/ µL.

A expressão dos genes de interesse foi determinada por reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, através do equipamento *StepOnePlus® Applied Biosystem*, utilizando iniciadores específicos para regiões altamente conservadas do gene 16S RNA, com as condições de ciclagem apresentadas na tabela 1. Todas as análises foram realizadas em duplicata. Para a quantificação da população total bacteriana, bem como dos filos e gêneros selecionados para o estudo, foi utilizado o sistema SYBR® Green I. A relação de iniciadores utilizados encontra-se descrita na tabela 1. Todos os dados referentes aos iniciadores foram submetidos a análise de similaridade utilizando o programa BLAST (*Basic local Alignment Search Tool*) ⁷⁰. O volume total de reação foi determinado em 12,0µL, sendo 5,0µL do *Fast SYBRTM Green Master mix*, 0,5µL do primer *forward*, 0,5 µL do primer *reverse*, 4,0µL da amostra de DNA bacteriano, e volume de água DEPC para completar o volume total da reação.

Tabela 1 - Iniciadores utilizados para amplificação e identificação de bactérias

Organismo	Iniciadores	Sequências (5' – 3')	[]	Referências
Total de Bactérias	Fwd primer	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	46,9nM	72
	Rev primer	GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT	53,7nM	
<i>Bacteroidetes</i>	Fwd primer	GAGAGGAAGGTCCCCAC	49,7nM	73
	Rev primer	CGCTACTTGGCTGGTTCAG	57,5nM	
<i>Bifido-bacterium</i>	Fwd primer	CGGGTGAGTAATGCGTGACC	46,6nM	74
	Rev primer	TGATAGGACGCGACCCCA	49,4nM	
<i>Firmicutes</i>	Fwd primer	TGAAACTYAAAGGAATTGACG	56,5nM	75
	Rev primer	ACCATGCACCACCTGTC	49,5nM	
<i>Prevotella</i>	Fwd primer	GAAGGTCCCCCACATTG	52,9nM	76
	Rev primer	CAATCGGAGTTCTTCGTG	53,9nM	

Fwd primer: iniciador *Forward*; Rev primer: iniciador *Reverse*. [] : Concentração.

A concentração e temperatura de anelamento dos *primers* possibilitaram que as condições de reação fossem padronizadas da seguinte maneira: desnaturação por 10 minutos a 95°C, seguida de 40 ciclos de 15 segundos a 95°C e 15 segundos a 60°C, seguidos da curva de melting (15 segundos a 95°C, 1 minuto a 60°C, 15 segundos a 95°C). Os resultados foram analisados com base no valor do Ciclo Threshold (Ct - *cycle threshold*) ou ponto de corte, que compreende o número de ciclos onde a amplificação atinge um limiar de detecção permitindo a análise quantitativa do gene alvo. A expressão relativa do gene alvo foi estimada pela fórmula $2^{-(\Delta Ct)}$ onde o $\Delta Ct = Ct$ do gene alvo - Ct do gene endógeno (Total de Bactérias intestinais).

3.6 Análise estatística dos dados

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*® (SPSS) versão 19.0 (SPSS Incorporation, 2010). A escolha dos testes

foi realizada de acordo com a normalidade da distribuição dos dados, verificada através do Teste de *Shapiro-Wilk*. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste qui-quadrado para variáveis qualitativas, as quais foram apresentadas no formato número absoluto seguido de seu valor em porcentagem. As diferenças entre os grupos para as variáveis quantitativas foram comparadas através do teste t de *student*. O coeficiente de correlação linear de *Spearman* foi utilizado para avaliar o nível de associação entre as variáveis testadas.

Posteriormente, a amostra de crianças foi estratificada em três grupos de acordo com a frequência de valores da adipocina chemerin, sendo que o primeiro grupo correspondeu à menores valores de chemerin, representando o primeiro tercil (do valor mínimo de chemerin até o percentil 25), enquanto o segundo grupo de crianças, representado pelo segundo tercil, foi caracterizado por valores de chemerin entre o percentil 25 e o percentil 75, e o terceiro grupo, representado pelo terceiro tercil, foi caracterizado por maiores níveis de chemerin, estando acima do percentil 75 até o valor máximo de chemerin (ng/ml). . A diferença entre os grupos de tercils foi avaliada através da análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós teste de Tukey. Os valores são apresentados como média \pm desvio padrão (DP) da média. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Um total de 98 crianças (44 do sexo masculino e 54 do sexo feminino), com média de idade de $8,51 \pm 0,86$ anos, mediante aprovação dos responsáveis, foram inscritos para as avaliações. As crianças foram distribuídas em dois grupos, de acordo com o perfil nutricional. O grupo controle foi composto por 19 crianças eutróficas do sexo masculino e 22 crianças eutróficas do sexo feminino, e o grupo com excesso de peso, foi constituído por 25 crianças do sexo masculino e 32 do sexo feminino. Não houve diferença estatística entre os dois grupos, no que se refere à idade ($p=0,051$) e ao sexo ($p=0,733$) (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuição da amostra segundo idade e gênero.

Variáveis	Total (n=98)	Grupo controle (n=41)	Grupo com excesso de peso (n=57)	P
Idade (anos)	$8,5 \pm 1,03$	$8,68 \pm 0,90$	$8,42 \pm 1,13$	0,051
Sexo				0,733
Masculino	44 (44,9)	19 (43,2)	25 (40,8)	
Feminino	54 (55,1)	22 (56,8)	32 (59,2)	

Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão, para dados contínuos e n (%) para dados categóricos. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste t de *student*, para os dados contínuos, e qui-quadrado, para as variáveis categóricas. Com nível de significância de $p < 0,05$.

O perfil social das crianças foi avaliado através do questionário social. Em geral, as crianças pertenciam à família do tipo nuclear e o segundo tipo mais frequente foi o tipo nuclear com padrasto. O pai era o chefe em 42,10% das famílias do grupo com excesso de peso. Nos dois grupos avaliados, a escolaridade mais frequente, tanto do chefe da família quanto da mãe, foi o ensino médio completo. No grupo controle, 53,65% das crianças tinham a mãe como cuidadora em casa e 17,07% a avó, e no grupo com excesso de peso 50,87% e 22,80%, respectivamente. Para todas as variáveis referentes ao perfil social, não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos analisados.

A classificação das famílias por estimativa de renda foi analisada, atribuindo a ambos os grupos a predominância da classe econômica C, com 56,09% no grupo controle,

e 54,38% no grupo com excesso de peso. Não observamos diferença significativa quando os dois grupos foram comparados ($p= 0,990$).

Analisando as variáveis peso e comprimento ao nascer, e tipo de amamentação das crianças, segundo o perfil nutricional, verificamos que as médias não variaram entre os grupos controle e excesso de peso (Tabela 3).

Tabela 3 - Variáveis relacionadas ao nascimento e amamentação, segundo o perfil nutricional.

Variáveis	Grupo controle (n=41)	Grupo com excesso de peso (n=57)	P
Peso ao nascer (g)	3247,50±626,16	3352,30±552,64	0,367
Comprimento ao nascer (cm)	49,75±3,20	49,82±3,31	0,640
Amamentação exclusiva (meses)	4,64±1,78	4,55±2,21	0,113
Amamentação total (meses)	14,54±10,11	13,94±12,30	0,402

Os valores estão apresentados em média \pm desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de *Student*. Com nível de significância de $p<0,05$.

4.2 Consumo alimentar

A partir dos dados demonstrados na tabela 4 (Anexo VI), podemos observar que os três alimentos mais consumidos diariamente entre as crianças de cada grupo foram: arroz, feijão e leite. Os alimentos que apresentaram frequência de consumo ≥ 4 vezes/semana, por mais de 30% das crianças pertencentes a cada grupo, foram: carnes, suco artificial, pão e margarina ou manteiga.

Nos dois grupos, os alimentos mais ingeridos até 3 vezes/semana foram: refrigerante, doces, bolachas e frituras. O consumo diário de verduras/legumes e frutas foi distribuído respectivamente da seguinte maneira: grupo controle (29,26%; 26,82%) e grupo excesso de peso (31,57%; 26,31%). A maior porcentagem das crianças avaliadas consome estes vegetais no máximo 3 vezes/semana.

4.3 Hábitos de atividade física e sedentária

O tempo médio diário gasto em atividades físicas, tais como brincadeiras, natação, futebol, dança, andar de bicicleta e executar tarefas domésticas, foi significativamente

menor no grupo com excesso de peso, quando comparado ao grupo controle (Tabela 5). As atividades sedentárias avaliadas foram: assistir televisão, jogar vídeo game e ficar no computador. O tempo médio gasto na realização destas atividades foi maior no grupo com excesso de peso, quando comparado ao grupo controle.

Tabela 5 - Nível de atividade das crianças, segundo o perfil nutricional.

Nível de atividade	Total (n=98)	Grupo Controle (n=41)	Grupo Excesso de peso (n=57)	<i>P</i>
TAF (min)	81,89±43,20	96,60±51,20	71,38±33,26*	<0,05
TAS (min)	169,4±67,08	143,1±51,56	192,4±71,02*	<0,05

TAF: tempo gasto em atividade física; TAS: tempo gasto em atividade sedentária. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de *Student*. *, $p < 0,05$ versus grupo controle.

4.4 Avaliação da pressão arterial sistêmica

Das 98 crianças avaliadas nesse estudo, duas apresentaram valores de PAS e/ou PAD superiores ao percentil 90 para idade, sexo e altura. Destas, uma apresentou o quadro de pré-hipertensão e outra apresentou hipertensão arterial. Entretanto, verificamos que o grupo com excesso de peso apresentou aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) nas médias de PAS e PAD quando comparado ao grupo controle (Tabela 6).

Tabela 6 - Avaliação da pressão arterial segundo o perfil nutricional.

Variáveis	Grupo Controle (n=41)	Grupo Excesso de Peso (n=57)	<i>P</i>
PAS (mmHg)	88,54±8,72	96,35±10,63*	< 0,05
PAD (mmHg)	53,49±8,80	58,76±8,75*	< 0,05

PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de *Student*. *, $p < 0,05$ versus grupo controle.

4.5 Caracterização antropométrica

A tabela 7 apresenta as características descritivas da amostra, comparando todas as variáveis antropométricas, de acordo com o perfil nutricional. As variáveis idade e altura

não apresentaram diferença significativa entre os dois grupos avaliados, o que evidencia a homogeneidade entre os grupos, não caracterizando viés de seleção da amostra. Na análise das demais variáveis antropométricas, conforme esperado, observamos diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os grupos avaliados. O grupo de crianças com excesso de peso apresentou aumento do IMC, da circunferência da cintura, RCQ e dos somatórios médios das dobras cutâneas tricipital e subescapular, bem como das pregas tricipital e da panturrilha, quando comparados ao grupo controle.

Tabela 7. Distribuição das variáveis antropométricas segundo o perfil nutricional.

Variáveis	Total (n=98)	Grupo Controle (n = 41)	Grupo Excesso de Peso (n = 57)	<i>p</i>
IMC	19,49±3,68	16,31±1,40	21,97±2,91*	<0,05
CC (cm)	63,62±9,21	55,97±4,59	68,77±7,86*	<0,05
CQ (cm)	75,95±8,69	69,21±4,79	80,83±7,56*	<0,05
RCQ (cm)	83,13±5,13	81,24±5,20	84,58±4,60*	<0,05
CB (cm)	22,16±3,68	19,16±1,44	24,00±3,42*	<0,05
CA (cm)	68,55±11,11	58,95±3,83	75,34±9,43*	<0,05
ΣDCTS (mm)	23,92±10,57	15,49±4,84	30,74±8,90*	<0,05
ΣDCTP (mm)	26,53±10,27	18,48±6,03	33,04±8,16*	<0,05

IMC: Índice de massa corporal; CC: Circunferência da cintura; CQ: Circunferência do quadril; RCQ: Razão cintura-quadril; CB: Circunferência do braço; CA: Circunferência abdominal; ΣDCTS: somatório médio das dobras cutâneas tricipital e subescapular; ΣDCTP: somatório médio das dobras cutâneas tricipital e panturrilha. Os valores estão apresentados em média ± desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de *Student*. *, $p < 0,05$ versus grupo controle.

4.6 Avaliação do perfil lipídico

Os resultados do perfil lipídico são apresentados na figura 2 (Gráficos de A - E), e foram distribuídos conforme o perfil nutricional. Os resultados indicaram que a concentração de colesterol total não foi diferente ($p=0,249$) entre os grupos controle ($139,6 \pm 4,01$) e excesso de peso ($146,0 \pm 3,68$). Resultado semelhante foi observado com a análise da concentração de LDL colesterol (grupo controle: $79,90 \pm 3,96$; grupo excesso de peso: $80,97 \pm 3,05$, $p=0,220$). Entretanto, o conteúdo de triglicerídeos foi superior ($p < 0,05$) no grupo com excesso de peso ($95,07 \pm 6,43$), quando comparado ao grupo controle

($72,70 \pm 5,11$), enquanto o conteúdo de HDL foi inferior (grupo com excesso de peso: $45,25 \pm 1,40$; grupo controle: $50,54 \pm 1,80$; $p < 0,05$).

Na avaliação do índice aterogênico, que corresponde à razão colesterol total /HDL, o grupo com excesso de peso apresentou aumento significativo ($2,27 \pm 0,10$; $p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle ($1,92 \pm 0,12$).

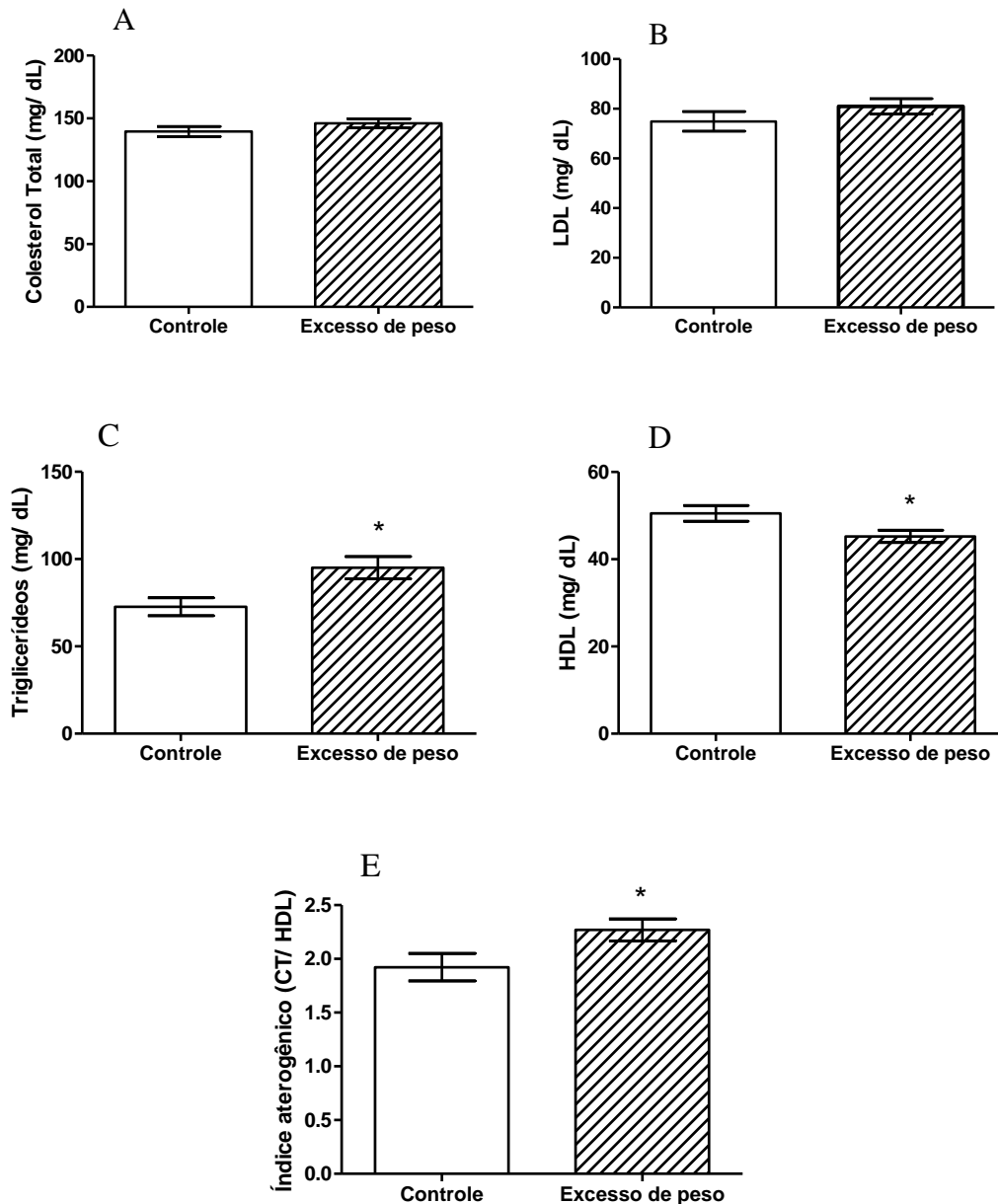


Figura 2. Perfil lipídico das crianças, segundo o perfil nutricional. $n = 98$ (grupo controle: $n = 41$, grupo com excesso de peso: $n = 57$). LDL: Lipoproteína de baixa densidade; HDL: Lipoproteína de alta densidade; CT: Colesterol total. A- Colesterol total distribuído segundo perfil nutricional; B- Triglicerídeos distribuído segundo perfil nutricional; C- LDL distribuído segundo perfil nutricional; D- HDL distribuído segundo perfil nutricional; E- Índice aterogênico distribuído segundo perfil nutricional. Resultados apresentados em média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de Student. *, $p < 0,05$ versus grupo controle.

4.7 Avaliação dos níveis glicêmicos

Embora não tenha sido detectada hiperglicemia de jejum em nenhuma das 98 crianças avaliadas, o nível de glicose no plasma sanguíneo, avaliado após o período entre dez e doze horas de jejum, foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo com excesso de peso ($81,57 \pm 0,97$), quando comparado ao grupo controle ($78,55 \pm 0,98$).

4.8 Avaliação da composição da microbiota intestinal

A abundância relativa das bactérias, representada em $2^{-(\Delta Ct)}$, foi obtida para as bactérias do filo *Firmicutes*, do filo *Bacteroidetes*, do gênero *Bifidobacterium* e do gênero *Prevotella*. O total de bactérias intestinais de cada criança também foi avaliado e caracteriza o controle endógeno utilizado. Como esperado, a quantidade total de bactérias intestinais não se apresentou diferente na comparação intergrupos, o que pode ser observado na figura 3A.

Para a quantidade relativa de bactérias do filo *Firmicutes*, foi observada diferença entre o grupo controle ($0,90 \pm 0,23$) e o grupo com excesso de peso ($3,08 \pm 1,05$), onde o grupo com excesso de peso apresentou quantidade significativamente maior ($p < 0,05$) (Figura 3B). O filo *Bacteroidetes*, apresentado na figura 3C, se mostrou reduzido em crianças com excesso de peso ($1,29 \pm 0,16$) quando comparado ao grupo controle ($3,02 \pm 0,72$).

A razão *Firmicutes/ Bacteroidetes*, um bom biomarcador para a obesidade, foi também avaliada. A figura 3D mostra a razão *Firmicutes/ Bacteroidetes* para cada grupo, podendo ser observado aumento significativo da razão no grupo com excesso de peso ($1,86 \pm 0,60$), quando comparado ao grupo controle ($0,12 \pm 0,44$).

A análise do gênero *Prevotella*, relacionada ao perfil nutricional, pode ser observada na figura 3E. Evidenciou-se diferença significativa na quantidade relativa deste gênero bacteriano, entre o grupo controle ($3,72 \pm 0,87$) e o grupo excesso de peso ($1,63 \pm 0,29$), com redução significativa em crianças com excesso de peso ($p < 0,05$). Da mesma forma, as bactérias intestinais do gênero *Bifidobacterium* se apresentaram em quantidade reduzida no grupo com excesso de peso ($0,32 \pm 0,09$) em relação ao grupo controle ($1,04 \pm 0,26$) (Figura 3F).

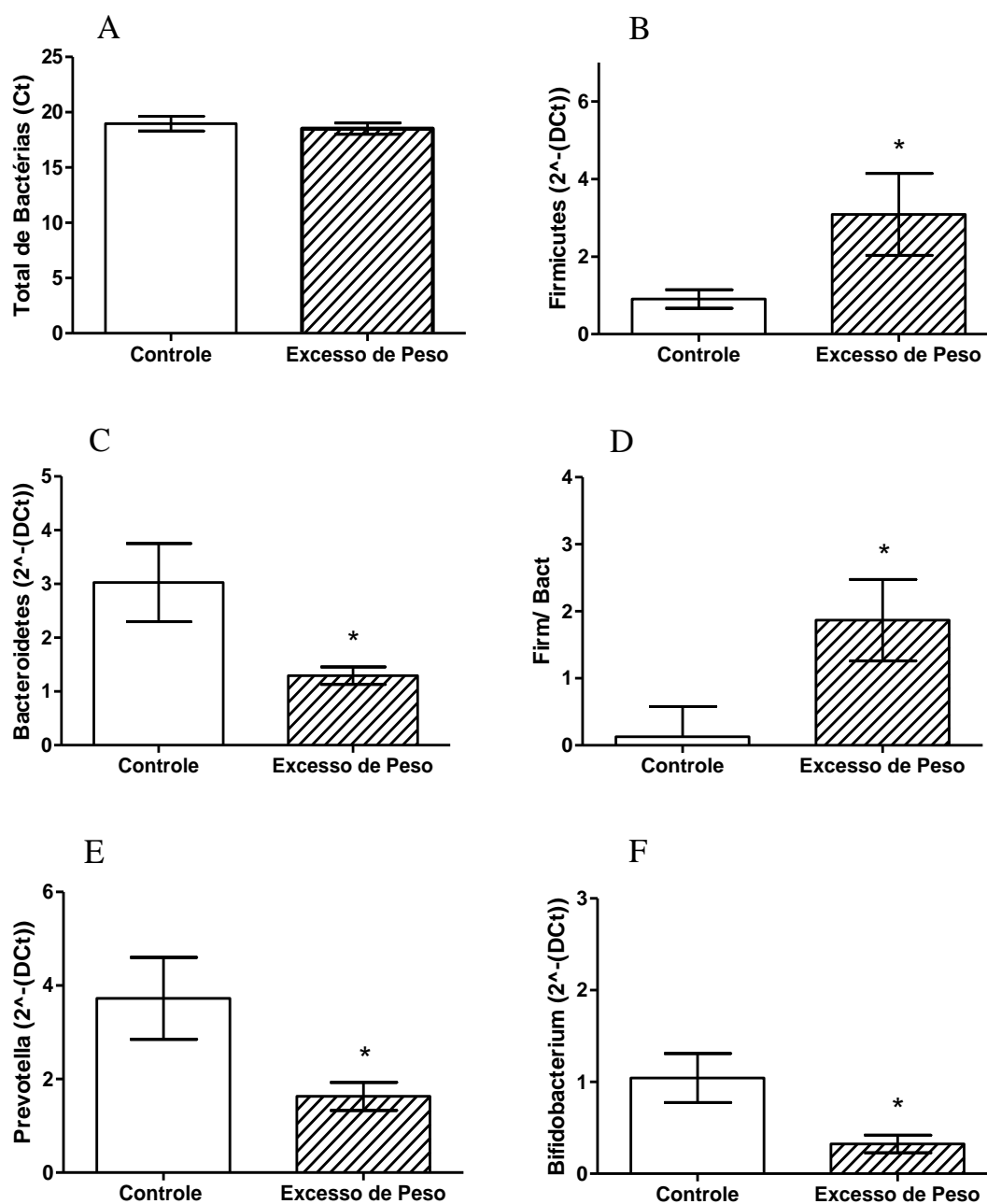


Figura 3. Composição da microbiota intestinal segundo o perfil nutricional. n= 93 (grupo controle: n= 40, grupo com excesso de peso: n=53). Os valores são apresentados em $2^{\Delta Ct}$ para a abundância relativa das bactérias avaliadas. A- População total de bactérias intestinais segundo o perfil nutricional; B- Abundância relativa do Filo *Firmicutes* segundo o perfil nutricional; C- Abundância relativa do Filo *Bacteroidetes* segundo o perfil nutricional; D- Razão entre o Filo *Firmicutes* e o Filo *Bacteroidetes* segundo perfil nutricional; E- Abundância relativa do Gênero *Prevotella* segundo o perfil nutricional; F- Abundância relativa do Gênero *Bifidobacterium* segundo o perfil nutricional. Resultados apresentados em média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de *Student*. *, $p < 0,05$ versus grupo controle.

4.9 Associações entre a abundância relativa de bactérias intestinais e as variáveis antropométricas e cardiometabólicas

O teste de correlação de *Spearman* foi utilizado a fim de buscar possíveis associações entre as variáveis antropométricas e cardiometabólicas avaliadas e a proporção relativa das bactérias pertencentes aos filos e gêneros bacterianos intestinais quantificados. Foi observada uma correlação positiva fraca entre a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* e o IMC ($r=0,29$, $p<0,05$). Da mesma forma, encontramos correlação significativa da razão *Firmicutes/Bacteroidetes* com a circunferência da cintura ($r=0,27$, $p<0,05$). Além disso, evidenciamos correlação negativa moderada entre as bactérias do gênero *Bifidobacterium* e as medidas de adiposidade IMC ($r=-0,45$, $p<0,05$) e circunferência da cintura ($r=-0,39$, $p<0,05$). Não foi observada correlação estatisticamente significativa entre os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, bem como o gênero *Prevotella*, com as variáveis antropométricas ou cardiometabólicas.

4.10 Associação entre níveis séricos de chemerin e as variáveis antropométricas e cardiometabólicas

Na análise dos níveis de chemerin, evidenciou-se aumento significativo desta citocina no soro das crianças do grupo com excesso de peso ($38,37\pm 0,94$) quando comparadas ao grupo controle ($34,48\pm 1,12$, $p<0,05$), conforme ilustrado na figura 4. Os níveis séricos da adipocina chemerin foram categorizados em três grupos de acordo com sua distribuição em tercís (Tercil 1= 25,01 – 31,8910; Tercil 2= 31,8911 – 43,1124; Tercil 3= 43,1125 – 50,44). As diferenças entre os tercís quanto aos parâmetros de adiposidade e aos fatores de risco cardiovasculares são apresentadas na tabela 8. Foi observada diferença estatisticamente significativa entre o terceiro e o segundo tercil na variável IMC, sendo que o IMC foi maior no grupo do terceiro tercil. A RCQ apresentou-se maior no segundo e no terceiro tercil, quando comparados ao primeiro tercil. De modo similar, a variável circunferência da cintura apresentou-se maior no segundo e no terceiro tercil, em comparação com o primeiro. Além dos marcadores de adiposidade, os seguintes fatores de risco cardiovasculares se apresentaram diferentes entre os grupos de tercís: TG e VLDL, apresentando-se maiores no terceiro tercil em relação ao primeiro e ao terceiro tercil; e o

log TG/HDL, um potente preditor para o desenvolvimento de aterosclerose que se mostrou aumentado no terceiro tercil em comparação com o segundo tercil.

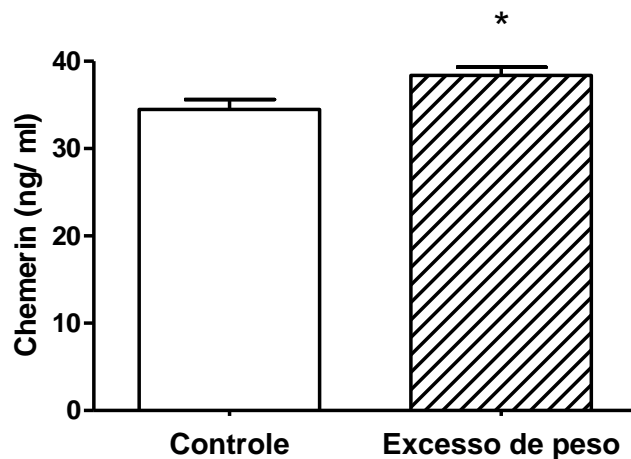


Figura 4. Níveis de chemerin distribuídos segundo o perfil nutricional. n= 91 (grupo controle: n= 37, grupo com excesso de peso: n=54). Resultados apresentados em média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do teste T de Student. *, $p < 0,05$ versus grupo controle.

Tabela 8. Parâmetros de adiposidade e fatores de risco cardiovasculares, segundo os níveis séricos de chemerin em tercís.

	Tercil 1	Tercil 2	Tercil 3	P
Chemerin (ng/ml)	(25,01-31,89) n=23	(31,89-43,11) n=46	(43,11-50,44) n=22	
IMC	17,88±2,90	19,88±4,05	20,61±3,68 ^F	<0,05
RCQ (cm)	79,50±5,17	84,51±5,19 ^I	84,50±4,64 ^I	<0,05
CC (cm)	59,21±7,52	65,16±8,90 ^I	67,26±9,26 ^I	<0,05
TG (mg/dL)	73,76±31,74	76,26±35,77	108±47,07 ^{I F}	<0,05
VLDL (mg/dL)	14,75±6,34	14,65±6,01	21,60±9,41 ^{I F}	<0,05
Log TG/HDL	-0,16±0,27	-0,18±0,25	-0,012±0,24 ^F	<0,05

IMC: Índice de massa corporal; RCQ: Razão Cintura-Quadril; CC: Circunferência da cintura; PAD: Pressão Arterial Diastólica; TG: Triglicerídeos; VLDL: *Very Low Density Lipoprotein*; HDL: *High Density Lipoprotein*. Níveis séricos de chemerin categorizados de acordo com sua distribuição em tercís. Os valores estão apresentados em média ± desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através da análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós teste de Tukey. ^I, $p < 0,05$ versus tercil 1; ^F, $p < 0,05$ versus tercil 2.

4.11 Associação entre níveis séricos de chemerin e abundância relativa de bactérias intestinais

Foi realizada a análise da abundância relativa das bactérias intestinais, incluídas neste estudo, de acordo com os níveis de adipocina chemerin distribuídos em tercís. Em destaque, a figura 5 apresenta a abundância relativa de bactérias do filo *Bacteroidetes*, que se mostrou reduzida ($p < 0,05$) no segundo ($1,52 \pm 2,25$) e no terceiro tercil ($0,95 \pm 0,68$) quando comparados ao primeiro ($3,99 \pm 4,34$). Adicionalmente, a abundância relativa de bactérias do gênero *Bifidobacterium* se mostrou reduzida ($p < 0,05$) no segundo ($0,55 \pm 0,87$) e terceiro tercil ($0,40 \pm 0,68$) em comparação com o primeiro tercil ($1,59 \pm 1,99$). As quantificações de bactérias do filo *Firmicutes*, a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* e o gênero *Prevotella* não se mostraram diferentes entre os grupos de tercís de chemerin.

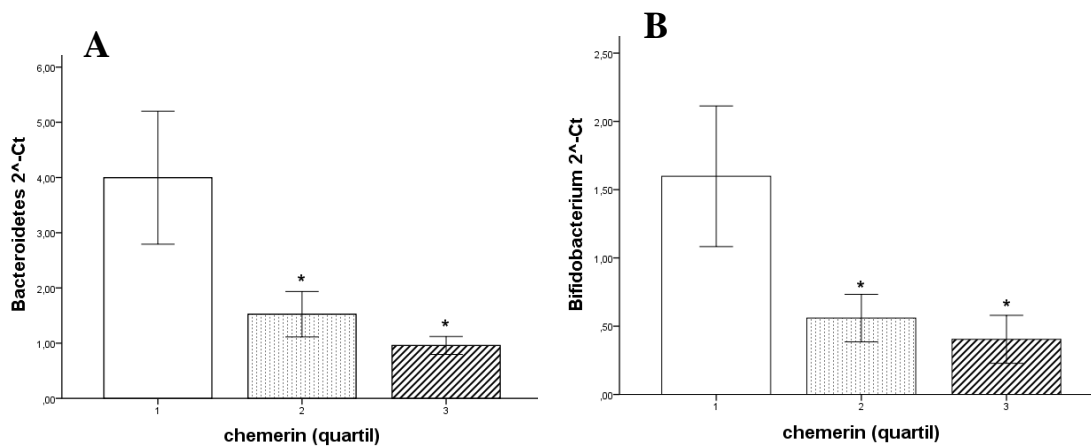


Figura 5. A - Abundância relativa de *Bacteroidetes* em cada tercil de níveis séricos de chemerin. B - Abundância relativa de *Bifidobacterium* em cada tercil de níveis séricos de chemerin n= 91 (tercil 1, n= 19; tercil 2, n= 28; tercil 3, n=18). Resultados apresentados em média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através da análise de variância (ANOVA) seguida pelo pós teste de Tukey. *, $p < 0,05$ versus tercil 1.

5 DISCUSSÃO

As doenças cardiovasculares ateroscleróticas constituem a principal causa de morte em países desenvolvidos e em diversas nações em desenvolvimento. Após várias décadas de estudo, os fatores de risco para o desenvolvimento destas doenças têm sido identificados. Esses fatores de risco incluem idade avançada, sexo masculino, história familiar positiva, hipertensão arterial, dislipidemia, diabetes mellitus, tabagismo e obesidade⁷⁷. Uma questão fundamental tem sido o momento no qual o desenvolvimento das alterações ateroscleróticas inicia-se. O tempo é crítico porque determina, pelo menos em parte, quando as estratégias de intervenção deveriam ocorrer. Tanto a prevenção do desenvolvimento dos fatores de risco (prevenção primordial) quanto à modificação deles, uma vez estabelecidos (prevenção primária), são importantes.

No presente estudo, buscamos ampliar o entendimento sobre as variáveis que podem estar associadas ao grau de adiposidade e aos demais fatores de risco para doenças cardiovasculares em crianças através da análise de associações entre estas variáveis e a composição da microbiota intestinal, bem como através da verificação da associação destas variáveis (bactérias intestinais, marcadores de adiposidade e fatores de risco cardiovasculares) com as concentrações séricas da adipocina chemerin. De grande relevância, demonstramos que as alterações na proporção de componentes da microbiota intestinal assim como níveis elevados de adipocina chemerin, de modo similar ao observado em adultos, podem também estar presentes na população infantil. Em adição, destacamos a associação de componentes específicos da microbiota intestinal com importantes marcadores de adiposidade, além da associação da adipocina chemerin com variáveis referentes ao perfil lipídico (diretamente relacionadas com fatores de risco para doenças cardiovasculares) e com bactérias intestinais.

Para a instalação da obesidade na infância, os distúrbios da dinâmica familiar são considerados de grande relevância¹, no entanto, em nosso estudo, não foram observadas diferenças entre o grupo com excesso de peso e grupo controle, em relação às variáveis relacionadas tanto ao perfil social quanto ao perfil socioeconômico, o que reduz a chance dos fatores sociais influenciarem de maneira relevante as demais variáveis deste estudo. Adicionalmente, as variáveis peso e o comprimento ao nascer, além do tipo de amamentação das crianças, foi semelhante entre os dois grupos avaliados.

A literatura mostra que os padrões alimentares atuais têm contribuído para a maior prevalência da obesidade em todas as faixas etárias^{2, 5, 6}, no entanto, não observamos

diferença entre os grupos avaliados quanto ao consumo alimentar, o que indica que outros fatores podem estar associados com o excesso de massa corporal nas crianças. Neste sentido, cabe destacar a influência de um dos principais componentes relacionados ao estilo de vida, representado pela atividade física, a qual afeta sobremaneira a incidência de sobrepeso e obesidade. O papel deste componente foi evidenciado em nosso estudo tanto no que se refere ao tempo diário gasto em atividades físicas, que foi menor no grupo com excesso de peso, quanto nas atividades sedentárias, que foi consideravelmente maior nestas crianças. Estes resultados estão de acordo com diversos estudos que têm atribuído a alta prevalência de obesidade infantil a hábitos sedentários⁸⁵⁻⁸⁶.

Os hábitos sedentários alteram negativamente a fisiologia de diversos sistemas orgânicos, principalmente o sistema cardiovascular. Um fator de risco muito bem estabelecido para as doenças cardiovasculares é a hipertensão arterial⁸⁷. Esta condição, frequentemente presente em adultos obesos⁵, tem sido cada vez mais detectada na população de crianças e adolescentes⁸⁸. Em nossos dados, observamos aumento nas médias de PAS e PAD em crianças com excesso de peso, quando comparado ao grupo controle, o que reforça a influência do aumento da massa corporal sobre a pressão arterial sistêmica. A elevação da pressão arterial sistêmica em crianças com excesso de peso está associada com as alterações metabólicas presentes na obesidade, sendo que estas constituem um importante preditor de hipertensão arterial na fase adulta.

As complicações metabólicas presentes na obesidade podem influenciar também a gênese das dislipidemias. Vários estudos demonstraram associação entre obesidade infantil e aumento dos níveis de colesterol total, LDL colesterol e baixos níveis de HDL colesterol, com maior risco para o desenvolvimento de doença aterosclerótica. Embora nossos resultados não tenham evidenciado diferença entre os dois grupos para as concentrações de colesterol total e colesterol LDL, o conteúdo de HDL se apresentou em menor concentração no grupo com excesso de peso, o que pode aumentar ainda mais o risco de desenvolvimento de aterosclerose, por tratar-se de uma variável envolvida no índice aterogênico. De fato, foi observado em nosso estudo que o índice aterogênico foi significativamente maior no grupo de crianças com excesso de peso. Este resultado corrobora com os achados de Freedman e colaboradores (1999), que relataram que os níveis elevados de colesterol na infância têm papel importante no estabelecimento da aterosclerose na vida adulta⁸⁹. Estes autores, assim como o estudo de Quijada e colaboradores (2008), demonstraram um índice aterogênico maior em crianças com

excesso de peso, quando comparadas a crianças eutróficas⁹⁰. Em conjunto, estes resultados fornecem suporte às evidências recentes relacionadas ao grande valor preditivo do índice aterogênico como biomarcador de doenças cardiovasculares quando comparado aos parâmetros lipídicos isoladamente.

Embora não tenha sido detectada hiperglicemia em nenhuma das noventa e oito crianças avaliadas, foi possível evidenciar na amostra avaliada em nosso estudo, que o excesso de peso corporal tem relação com maiores níveis circulantes de glicose no plasma. Este resultado se torna de grande relevância levando-se em consideração que o nível elevado de glicose plasmática, mesmo na ausência de hiperglicemia, aparece como um fator de risco independente para o desenvolvimento de intolerância à glicose entre crianças e adolescentes obesos. Neste sentido, Grandone e colaboradores (2008) demonstraram que crianças obesas com glicemia em jejum superior a 87 mg/dL, e inferior a 100 mg/dL, apresentam um risco até sete vezes maior de apresentar tolerância diminuída à glicose⁹¹. O mesmo foi observado em adultos, nos quais Tirosh e colaboradores (2005) demonstraram que os níveis elevados de glicose plasmática em jejum, constituem um fator de risco independente para o aparecimento de diabetes tipo 2. Estes autores avaliaram indivíduos adultos, durante um período de dez anos, com níveis de glicose superiores a 87 mg /dL, observando ao final do tempo um risco significativamente aumentado para o desenvolvimento de diabetes tipo 2⁹².

Ainda não se tem estabelecido um limiar na associação entre os níveis de glicose em jejum e o risco de diabetes em adultos, porém, é conhecido que, mesmo na faixa normal de glicemia de jejum, este componente está intimamente relacionado com fatores de risco cardiovascular, incluindo obesidade, hipertensão arterial e dislipidemia. O mecanismo proposto para esta associação, no que se refere à obesidade, parece envolver aumento nos níveis de ácidos graxos livres e adipocinas provenientes do excesso de tecido TAB, com prejuízo nos efeitos metabólicos promovidos pela insulina, caracterizando o quadro de resistência à insulina, frequentemente observado em indivíduos obesos⁹².

Evidências recentes têm apontado a microbiota intestinal como um componente importante envolvido na regulação metabólica, no controle da digestão e da biodisponibilidade de alimentos. Estudos de metagenômica indicam que a microbiota intestinal humana possui cerca de 3,3 milhões de diferentes genes, o que corresponde a 150 vezes mais que o genoma humano²⁷. As funções fisiológicas atribuídas à microbiota intestinal têm se estendido aos tecidos extra intestinais, tais como o fígado, o sistema

nervoso central e o tecido adiposo, construindo deste modo, novas conexões com a obesidade e desordens relacionadas, incluindo diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares 27, 72, 75.

Até o final do primeiro ano de vida, a microbiota intestinal passa por uma transição, até se assemelhar com a microbiota do indivíduo adulto, e se torna completamente semelhante entre os três e quatro anos de idade, passando a ser dominada por dois filos, que correspondem a mais que 90% de todas as bactérias intestinais, o filo *Firmicutes*, o qual é considerado pró-inflamatório e obesogênico, e o filo *Bacteroidetes*, o qual pode desempenhar papel protetor contra esses efeitos ²⁹. Nossos resultados demonstraram redução significativa na abundância relativa de *Bacteroidetes*, além de aumento da proporção de bactérias do filo *Firmicutes* no grupo com excesso de peso. O ganho de peso ainda nas fases iniciais da vida (período de 1 a 3 anos de idade), também já foi associado positivamente à prevalência do filo *Firmicutes* ⁹³. Em adultos obesos, Ley e colaboradores (2006) demonstraram que a proporção relativa de *Bacteroidetes* é também reduzida quando estes indivíduos são comparados aos eutróficos. De modo bastante relevante, essa proporção aumenta com a perda de peso ⁹⁴.

Xu e colaboradores (2012) quantificaram bactérias dos filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* em crianças com idade entre sete e treze anos, divididas em um grupo com sobrepeso e um grupo de crianças eutróficas. O estudo revelou uma redução significativa no número de *Bacteroidetes* nas amostras fecais de meninas obesas, mas não de meninos, quando estratificados por gênero ³⁸. Além disso, não observaram alterações significantes no número de *Firmicutes* entre os grupos avaliados. Estes dados, comparados com os resultados apresentados em nosso estudo, indicam que as características da composição da microbiota intestinal podem de fato serem influenciadas nas diferentes fases do desenvolvimento, mais especificamente, durante a fase da puberdade, período compreendido na faixa etária da amostra utilizada no estudo de Xu e colaboradores.

Na literatura, a associação entre a razão *Firmicutes/ Bacteroidetes* representa uma caracterização comum da microbiota intestinal. A razão entre os dois filos foi identificada pela primeira vez em um estudo realizado por Ley e colaboradores (2005), onde foi observado aumento proporcional na abundância de *Firmicutes* em camundongos obesos ³⁹. Atualmente, a razão *Firmicutes/ Bacteroidetes* é uma ferramenta muito contundente para examinar e prever as relações entre obesidade e microbiota intestinal, pois reflete o estado de obesidade, devido ao fato de que cada um desses filos contém grande quantidade de

espécies, com diversas propriedades metabólicas, que os fazem responder de maneira não uniforme à dieta e à fisiologia do hospedeiro. Em concordância com observações prévias em adultos ^{33, 35, 40}, nosso estudo evidenciou a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* elevada em crianças com excesso de peso. Em adição, nossos resultados revelaram uma correlação positiva entre a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* e o IMC das crianças, bem como com a circunferência da cintura. Esses resultados confirmam a associação entre a obesidade infantil com os dois principais filos bacterianos existentes na microbiota intestinal, confirmando assim, o estabelecimento precoce de alterações na composição da microbiota intestinal em condições associadas ao excesso de peso.

Dos membros do filo *Bacteroidetes*, dois gêneros predominam, *Bacteroides* e *Prevotella*. Filippo e colaboradores (2010) observaram a presença de *Prevotella* e mais dois outros gêneros, em crianças africanas com peso normal e alimentadas por dieta rica em fibras, enquanto o gênero *bacteroides* foi ausente nessa amostra de crianças. Em destaque, bactérias do gênero *Prevotella* têm efeitos benéficos sobre o hospedeiro. Demonstrou-se que mudanças na abundância e diversidade de espécies do gênero *Prevotella* estão associadas com a melhora da tolerância à glicose e possível competição por alimentos ricos em fibras ⁹⁵. Foi demonstrado por Kovatcheva-Datchary e colaboradores (2015) que um aumento da espécie *Prevotella Copri* sozinho, sem mudanças na dieta, pode melhorar a tolerância à glicose em modelos experimentais ³⁶.

São escassos os estudos que associam o gênero *Prevotella* com o excesso de peso. Em nosso estudo, demonstramos que as crianças com excesso de peso apresentam menor abundância do gênero *Prevotella*. Apesar disso, não foi observada correlação entre este gênero bacteriano e as variáveis antropométricas ou cardiometabólicas. Hu e colaboradores (2015) observaram redução de bactérias do gênero *Prevotella* em adolescentes obesos com idade entre treze e dezesseis anos. Além disso, evidenciaram correlação negativa entre o gênero *Prevotella* e o IMC dos adolescentes ¹⁰². Com base nos efeitos benéficos da *Prevotella*, e considerando o fato de este gênero estar presente em menor quantidade nas crianças avaliadas, esta redução pode constituir um mediador das alterações identificadas neste estudo.

Em nosso estudo, além do gênero *Prevotella*, avaliamos a presença do gênero *Bifidobacterium*, devido a sua ampla representatividade na composição da microbiota intestinal na infância ^{96, 97}. Nossos resultados revelaram menor quantidade de *Bifidobacterium* nas crianças com excesso de peso em comparação com o grupo controle.

Em destaque, nossos resultados revelaram moderada correlação negativa entre o gênero *Bifidobacterium* e IMC, bem como com circunferência da cintura. Estudos sugerem que uma alta concentração de bactérias do gênero *Bifidobacterium*, tanto na infância quanto na fase adulta, desempenha papel de proteção contra a obesidade^{40,42}. Existe a hipótese de que o gênero *Bifidobacterium* tem função de proteger contra translocação de endotoxinas e função de barreira de mucosa intestinal, influenciando assim na resposta imune do hospedeiro⁹⁸. Com base nos resultados observados em nosso estudo, é plausível sugerir que a redução do gênero *Bifidobacterium*, de modo similar à *Prevotella* pode, ao menos em parte, contribuir para alterar a resposta imune e favorecer o aumento de adiposidade.

Turnbaugh e colaboradores (2006) demonstraram que camundongos livres de germes submetidos a transplante de bactérias intestinais provenientes de camundongos obesos apresentaram um aumento de peso significativo independente do tipo de dieta administrada, evidenciando assim, um papel crucial das bactérias intestinais na adiposidade corporal⁴⁴. Estudos atribuem alguns mecanismos pelos quais a composição da microbiota intestinal pode influenciar na adiposidade do hospedeiro. Dentre eles, insere-se o aumento na produção de AGCC pelas bactérias intestinais devido ao aumento da ingesta calórica^{31,33}. Outro mecanismo, que tem sido sugerido como relacionado ou não ao anterior, é a indução da inflamação³². Há evidências de que a inflamação presente na obesidade é desencadeada pelo desbalanço entre a abundância de bactérias intestinais, e caracterizada por elevados níveis de adipocinas pró-inflamatórias^{32,35}. Pensando nesse conjunto de alterações, testamos a hipótese de que há uma relação direta entre a composição da microbiota intestinal e a adipocina pró-inflamatória chemerin. Em destaque, nosso estudo evidenciou menor abundância do filo *Bacteroidetes* e do gênero *Bifidobacterium* nos dois maiores tercís de chemerin, sugerindo assim, que as alterações na microbiota intestinal podem desencadear a liberação de maiores níveis de chemerin colaborando assim, para o aumento de peso corporal. De fato, a microbiota intestinal afeta a função imune, devido, principalmente, à ativação de receptores capazes de reconhecer fragmentos de bactérias e assim, iniciar a resposta imune aumentando a liberação de adipocinas pró-inflamatórias^{32,33}.

As alterações na microbiota intestinal presentes na obesidade alteram a função de barreira do intestino aumentando a permeabilidade intestinal, permitindo assim que o LPS entre em maiores níveis na circulação. Os LPS são resultantes da degradação de bactérias gram-negativas, e seus níveis estão elevados na obesidade³³. Os LPS são ainda, exemplos

de padrões moleculares associados a patógenos, que funcionam como mecanismo de identificação do que não é próprio do organismo, levando à ativação de uma cascata de reações intracelulares que promoverão a síntese de citocinas^{33,34}. Sugere-se, com base nesses estudos apresentados e baseado em nossos resultados, que a redução de *Bacteroidetes* e *Bifidobacterium* ocorram devido à maior degradação dessas bactérias na obesidade, o que resulta em maior liberação de LPS e conseqüentemente maior produção de adipocinas pró-inflamatórias, incluindo, a partir dos resultados deste estudo, a adipocina chemerin.

Em adição, nossos resultados apresentaram, que crianças com excesso de peso possuem maiores concentrações de chemerin circulantes, o que pôde ser confirmado pela associação evidenciada entre maiores níveis de chemerin representados pelos tercís e os marcadores de adiposidade: IMC, RCQ e circunferência da cintura. Em concordância com nossos resultados, Landgraf e colaboradores (2012) demonstraram que as concentrações séricas de chemerin foram maiores em crianças e adolescentes obesos, com idade entre sete e dezoito anos, comparado ao grupo de eutróficos, e essas concentrações foram correlacionadas com parâmetros de adiposidade como IMC e espessura das dobras cutâneas, além disso, o estudo observou correlação positiva entre os níveis da adipocina chemerin e níveis de TG⁹⁹. De fato, nossos resultados evidenciam maiores níveis de TG no grupo de concentrações mais elevadas de chemerin. Em adição, também foram observados maiores níveis de VLDL e log TG/ HDL, um bom marcador de aterogenicidade do plasma, no grupo com concentrações mais elevadas de chemerin, demonstrando assim que a desregulação na produção de citocinas pode contribuir diretamente para alterações importantes no perfil lipídico de crianças. Realmente, níveis elevados da adipocina chemerin na população infantil afetam a adiposidade, o metabolismo de adipócitos e a resposta inflamatória no tecido adiposo, tendo papel importante em alterações do metabolismo de glicose e de lipídios^{52,53}.

Em nossos resultados, não foi observada relação entre os níveis de chemerin com os níveis glicêmicos e com a pressão arterial sistêmica. Estes são considerados fatores de risco importantes para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, e são comumente relacionados com aumento de citocinas pró-inflamatórias em indivíduos adultos^{45,51}. Essa discrepância entre os estudos em adultos, e os resultados deste estudo realizado em crianças, pode ser explicada pelo fato de que, embora estes parâmetros já estejam alterados no grupo com sobrepeso em relação ao grupo controle, nenhuma das crianças deste estudo

apresentou diabetes ou hipertensão arterial (de acordo com valores de referência), contribuindo assim para o fato de não haver associação entre chemerin e estes fatores de risco citados. Apesar disso, nossos resultados mostram que importantes fatores de risco para o desenvolvimento de aterosclerose na vida adulta estão presentes nos estágios iniciais da vida, sugerindo que condutas precoces devem ser tomadas para limitar a progressão do excesso de peso para a vida adulta, prevenindo assim o desenvolvimento dos fatores de risco associados à obesidade.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo nos permitem concluir que as alterações na proporção de componentes da microbiota intestinal e a elevação dos níveis da adipocina chemerin estão associadas a fatores de risco cardiovasculares clássicos em crianças, de modo similar ao observado em indivíduos adultos. A associação de fatores de risco cardiovascular e de alguns dos componentes da microbiota intestinal com os níveis da adipocina chemerin, nos permite sugerir que, as alterações na microbiota intestinal podem desencadear a liberação da citocina pró-inflamatória chemerin, exacerbando assim o aumento de peso corporal e aumentando os fatores de risco cardiovascular associados a esta condição.

7 REFERÊNCIAS

- 1 Strauss RS, Pollack HA. Epidemic increase in childhood overweight, 1986-1998. *JAMA*. 2001;286(22):2845-8.
- 2 Sypniewska G. Laboratory assessment of cardiometabolic risk in overweight and obese children. *Clinical Biochemistry*. 2015; 48(6):370-376.
- 3 Lloyd LJ, Langley-Evans SC, McMullen S. Childhood obesity and risk of the adult metabolic syndrome: a systematic review. *Int J Obes (Lond)*. 2012;36(1):1-11.
- 4 Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: despesas, rendimento e condições de vida. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.
- 5 World Health Organization. Global strategy on diet, physical activity and health: childhood overweight and obesity. Geneva: WHO. 2014.
- 6 Ofei F. Obesity: A Preventable Disease. *Ghana Med J*. 2005; 41(13): 98-101.
- 7 Alvim RO, Mourao-Junior CA, Oliveira CM, Krieger JE, Mill JG, Pereira AC. Body Mass Index, Waist Circumference, Body Adiposity Index, and Risk for Type 2 Diabetes in Two Populations in Brazil: General and Amerindian. *Plos one*. 2014; 9(6): e100223.
- 8 Mion Jr. D, Gomes MAM, Nobre F, Amodeo C, Kohlmann Jr. O, Praxedes JN. IV diretrizes brasileiras de hipertensão arterial. *Arq Bras Cardiol* 2004; 82 Suppl 4:7-14.
- 9 Taylor R, Jones L, Williams S, Goulding A. Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children 3-19y. *Am J Clin Nutr*. 2000; (72): 490-495.
- 10 World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: WHO. 2000; 284:256.
- 11 Chesi A, Grant SFA. The genetic of pediatric obesity. *Trends Endocrinol Metab*. 2015; 26(12):711-21.
- 12 Ogden CL, Flegal KM. Changes in terminology for childhood overweight and obesity. *National health statistics reports*. 2010; 25(6):1-8.
- 13 Chiristakis NA, Fowler JH. The spread of obesity in a large social network over 32 years. *N Engl J Med*. 2007; 357: 370-379.
- 14 Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*. 2009; 457 (7228): 480-4.
- 15 McArdle MA, Finucane OM, Connaughton RM, McMorrow AM, Roche HM. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front Endocrinol*. 2013; 10(4):52.
- 16 Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Fève B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*. 2006; 17(1):4-12.
- 17 Antuna-Puente B, Fève B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab*. 2008; 34(1):2-11.
- 18 Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Publishing Group*. 2006; 6:772-83.
- 19 Matsuzawa Y. Therapy insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc Med*, (3):35-42.
- 20 Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology*. 2004;145:2273-82.

- 21 Nakamura T, Kobayashi H, Yanagi K, Nakagawa T, Nishida M, Kihara S. Importance of intra-abdominal visceral fat accumulation to coronary atherosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997;21(7):580-6.
- 22 Kelishadi R. Childhood Overweight, Obesity, and the Metabolic Syndrome in Developing Countries. *Epidemiol Rev*. 2007; (3):1-15.
- 23 Avogaro A, Kreutzenberg SV. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. *Clin Chim Acta*. 2005; 360(20):9-26.
- 24 Greenfield J, Campbell L. Insulin resistance and obesity. *Clin Derm*. 2004. 22(4): 289-295.
- 25 Bäckhed FDH, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(44):15718-15723.
- 26 Larsen LM, Jarbol DE. Management of overweight during childhood: a focus group study on health professionals experiences in general practice. *Int J Fam Med*. 2015; 15: 1-6.
- 27 Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010;464(7285):59-65).
- 28 Francino MP. Development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens*. 2014; 3(3): 769–790.
- 29 Cani PD, Delzenne NM. Gut microflora as a target for energy and metabolic homeostasis. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007; 10:729-734.
- 30 Rosenbaum M, Kinght R, Leibel RL. The gut microbiota in human energy homeostasis and obesity. *Trends in Endoc and Met*.2015; 1-9.
- 31 Schwiertz A, Taras D, Schafer K. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*. 2010; 18:190-195.
- 32 Karagiannides I, Pothoulakis C. Obesity, innate immunity and gut inflammation. *Curr Opin Gastroenterol*. 2007; 23(6):661-6.
- 33 Manco M, Putignani L, Bottazzo GF. Gut microbiota, lipopolysaccharides, and innate immunity in the pathogenesis of obesity and cardiovascular risk. *Endocr Rev*. 2010 Dec;31(6):817-44.
- 34 Saad MJ, Santos A, Prada PO. Linking Gut Microbiota and Inflammation to Obesity and Insulin Resistance. *Physiology, Bethesda*. 2016 Jul;31(4):283-93.
- 35 Pistelli GC, Costa CEM. Bactérias intestinais e obesidade. *Rev Saúd e Pesq São Paulo*. 2010;3(1):115-116.
- 36 Kovatcheva-Datchary P, Nilsson A, Akrami R, Lee YS, De Vadder F, Arora T, Hallen A, Martens E, Björck I, Bäckhed F. Dietary fiber-induced improvement in glucose metabolism is associated with increased abundance of *Prevotella*. *Cell Metab*. 2015; 22: 971–982.
- 37 Reichold A, Brenner SA, Spruss A, Förster-Fromme K, Bergheim I, Bischoff SC. *Bifidobacterium adolescentis* protects from the development of nonalcoholic steatohepatitis in a mouse model Bischoffa *J Nutr Biochem*. 2014; 25: 118–125.
- 38 Xu P, Zhang J, Zhang T. Correlation of intestinal microbiota with overweight and obesity in Kazakh school children. *BMC Microbio*. 2012; 12:283-289.
- 39 Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102(31):11070-5.
- 40 Angelakis E, Armougom F, Million M, Raoult D. The relationship between gut microbiota and weight gain in humans. *Future Microbiol*.2012; 7(1):91-109.

- 41 Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*. 2006;118(2):511-21.
- 42 Kalliomäki M, Collado MC, Salminen S, Isolauri E. Early differences in fecal microbiota composition in children may predict overweight. *Am J Clin Nutr*. 2008;87(3):534-8.
- 43 Scott KP, Gratz SW, Sheridan PO, Flint HJ, Duncan SH. The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacol Res*. 2013 Mar; 69(1):52-60.
- 44 Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mards ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444(7122): 1027-31.
- 45 Bozaoglu K. et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endoc*. 2007;148(10):4687-94.
- 46 Roh SG, Song SH, Choi KC, Katoh K, Wittamer V, Parmentier M, Sasaki S. Chemerin-a new adipokine that modulates adipogenesis via its own receptor. *Bioch and bioph res commun*. 2007; 362(4):1013-8.
- 47 Ernst MC, Sinal CJ. Chemerin: at the crossroads of inflammation and obesity. *Trends in endoc and metab*: 2010; 21(11):660-7.
- 48 Wittamer V, Franssen JD, Vulcano M, Mirjolet JF, Le Poul E, Migeotte I, Brézillon S, Tyldesley R, Blanpain C, Detheux M, Mantovani A, Sozzani S, Vassart G, Parmentier M, Communi D. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *J Exp Med*.2003; 198(7):977-85.
- 49 Kutzleb C, Busmann A, Wendland M, Maronde E. Discovery of novel regulatory peptides by reverse pharmacology: spotlight on chemerin and the RF-amide peptides metastin and QRFP. *Curr prot & pept sci*. 2005; 6(3):265-78.
- 50 Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, Muruganandan S, Sinal CJ. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *The Jour of biol chem*. 2007; 282(38):28175-88.
- 51 Sell H, Eckel J. Chemotactic cytokines, obesity and type 2 diabetes: in vivo and in vitro evidence for a possible causal correlation?. *Proc Nutr Soc*. 2009;8(4):378-84.
- 52 Schipper HS, Nuboer R, Prop S, Ham HJ, Boer FK, Kesmir C, Mommers IM, Bekkum KA, Woudstra J, Kieft JH, et al. Systemic inflammation in childhood obesity: Circulating inflammatory mediators and activated CD14⁺⁺ monocytes. *Diabetologia*. 2012; 55(1):2800–2810.
- 53 Barraco GM, Luciano R, Semeraro M, Hontoria PLP, Manco M. Recently discovered adipokines and cardio-metabolic comorbidities in childhood obesity. *Int J Mol sci*. 2014; 15: 19760-19776.
- 54 Bos, J.D. et al. Psoriasis: dysregulation of innate immunity. *Br J Dermatol*. 2005; 152, 1098–1107
- 55 Albanesi C, Scarponi C, Pallotta S, Daniele R, Bosisio D, Madonna S, Fortugno P, Gonzalvo-Feo S, Franssen JD, Parmentier M, Pità O, Girolomoni G, Sozzani S. Chemerin expression marks early psoriatic skin lesions and correlates with plasmacytoid dendritic cell recruitment. *J Exp Med*. 2009; 206, 249–258.
- 56 Buechler C. Chemerin, a novel player in inflammatory bowel disease. *Cell Mol Immunol*. 2014; 11(4): 315–316.
- 57 Weigert J, Obermeier F, Neumeier M, Wanninger J, Filarsky M, Bauer S, Aslanidis C, Rogler G, Ott C, Schäffler A, Schölmerich J, Buechler C. Circulating levels of chemerin and adiponectin are higher in ulcerative colitis and chemerin is elevated in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010; 16(4): 630-7.

- 58 Kukla M, Zwirska-Korczala K, Hartleb M, Waluga M, Chwist A, Kajor M, Ciupinska-Kajor M, Berdowska A, Wozniak-Grygiel E, Buldak R. Serum chemerin and vaspin in non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Gastroenterol*. 2010; 45(2): 235-42.
- 59 Graham KL, Zabel BA, Loghavi S, Zuniga LA, Ho PP, Sobel RA, Butcher EC. Chemokine-like receptor-1 expression by central nervous system-infiltrating leukocytes and involvement in a model of autoimmune demyelinating disease. *J Immunol*. 2009; 183: 6717–6723.
- 60 Röss C, Tschoner A, Engl J, Klaus A, Tilg H, Ebenbichler CF, Patsch JR, Kaser S. Effect of bariatric surgery on circulating chemerin levels. *Eur J Clin*. 2010; 40: 277–280.
- 61 Yang S, Wang Q, Huang W, Song Y, Feng G, Zhou L, Tan J. Are serum chemerin levels different between obese and non-obese polycystic ovary syndrome women? *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(1):38-41.
- 62 Spiroglou SG, Kostopoulos CG, Varakis JN, Papadaki HH. Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: differential expression and relation to atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb*. 2010; 17: 115–130.
- 63 Sell H, Divoux A, Poitou C, Basdevant A, Bouillot JL, Bedossa P, Tordjman J, Eckel J, Clément K. Chemerin correlates with markers for fatty liver in morbidly obese patients and strongly decreases after weight loss induced by bariatric surgery. *The Jour of clin end and metab*. 2010;95(6):2892-6.
- 64 Sallis JF, Strikmiller PK, Harsha DW, Feldman HA, Ehlinger S, Stone EJ. Validation of interviewer- and self-administered physical activity checklists for fifth grade students. *Med Sci Sports Exerc*. 1996; 28:840-51.
- 65 Cruciani F, Adami F, Assunção NA, Bergamaschi DP. Equivalência conceitual, de itens e semântica do *Physical Activity Checklist Interview* (PACI). *Cad Saúde Pública*. 2011;27(1):19-34.
- 66 National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatr*. 2004; 114: 555-576.
- 67 Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, Fonseca FA, Santos JE, Santos RD, Bertolami MC, Faludi AA, Martinez TLR, Diament J, Guimarães A, Forti NA, Moriguchi E, Chagas ACP, Coelho OR, Ramires JAF. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol*. 2013;101:1-20.
- 68 Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-sunyer FX. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006. 113(6): 898-918.
- 69 Milech A. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. Organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio - São Paulo. 2015; 11-12.
- 70 Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. 2012; 13: 134.
- 71 Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology*. 2002; 148, 257–266.

- 72 Remely M, Dworzak S, Hippel B, Zwielehner J, Aumüller E, Brath H, Haslberger A. Abundance and Diversity of Microbiota in Type 2 Diabetes and Obesity . *J Diabetes Metab.* 2013, 4:3.
- 73 Furet JP, Firmesse O, Gourmelon M, Bridonneau C, Tap J, Mondot S, Doré J, Corthier G. Comparative assessment of human and farm animal faecal microbiota using real-time quantitative PCR. *Fems Microbiol Ecol.* 2009; 68:351-362.
- 74 Gregoris TB, Aldred N, Clare AS, Burgess JG. Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa. *Journal of Microbiological Methods.* 2011. 86: 351–356.
- 75 Larsen N, Vogensen FK, Berg WJ, Nielsen DS, Andreasen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sorensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. Gut Microbiota in Human Adults with Type 2 Diabetes Differs from Non-Diabetic Adults. *Plos One.* 2010. 5(2):e9085.
- 76 Daniels SR, Pratt CA, Hayman LL. Reduction of risk for cardiovascular disease in children and adolescents. *Circulation.* 2011. 11;124(15):1673-86.
- 77 Chen AY, Escare JJ. Family Structure and Childhood Obesity, Early Childhood Longitudinal Study - Kindergarten Cohort. *Preventing Chronic Disease.* v 7, n 3, mai/2010. Disponível em: http://www.cdc.gov/pcd/issues/2010/may/09_0156.htm
- 78 Abrel JCR. Obesidade infantil: abordagem em contexto familiar. Monografia (Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação) – Universidade do Porto, Portugal, 2010.
- 79 Giugliano R, Carneiro EC. Fatores associados à obesidade em escolares. *Jornal de Pediatria.* 2004; 80(1).
- 80 Oliveira RMS, Franceschini SCC, Rosado GP, Priore SE. Influência do peso e comprimento ao nascer na determinação do estado nutricional de adultos jovens do sexo masculino. *Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* 2011;36(2):15-31.
- 81 Martins EB, Carvalho MS. Associação entre peso ao nascer e o excesso de peso na infância: revisão sistemática. *Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 2006; 22(11): 2281-2300.
- 82 Liese AD, Hirsch T, Mutius EV, Keil U, Leupold W, Weiland SK. Inverse association of overweight and breast feeding in 9 to 10-y-old children in Germany. *Intern J of Obes.* 2001;25: 1644–1650.
- 83 Amaral S, Basso C. Aleitamento materno e estado nutricional infantil | breastfeeding and nutritional status. *Disciplinarum Scientia.* 2009;10(1).
- 84 Padez C, Mourão I, Moreira P, Rosado V. Prevalence and risk factors for overweight and obesity in Portuguese children. *Acta Paed, Oxfordshire.* 2005; 94 (11):1550-7.
- 85 Mota J, Ribeiro J, Santos M, Gomes H. Obesity, physical activity, computer use, and TV viewing in Portuguese adolescents. *Ped Exer Sci.* 2006;17:113-121.
- 86 Raustorp A, Pangrazi R, Stahle A. Physical activity level and body mass index among schoolchildren in south-eastern Sweden. *Acta Paed, Oxfordshire.* 2004; 93: 400-4.
- 87 Luma GB, Spiotta RT. Hypertension in children and adolescents. *Am Fam Phys.* 2006;73(9):1558-1568.
- 88 Junior SLPS, Bozza R, Neto AS, Ulbrich AZ, Campos W. Relação do IMC e circunferência da cintura com a pressão arterial em escolares pré-púberes. *Fitn & Perf Jour.* 2010. 9(2):5-10.
- 89 Freedman DS, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson G.S. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics.* 1999;103:1175-82.
- 90 Quijada Z, Paoli M, Zerpa Y, Camacho N, Cichetti R, Villarroel V, Arata-Bellabarba G, Lanes R. The triglyceride/HDL-cholesterol ratio as a marker of cardiovascular risk in

- obese children; association with traditional and emergent risk factors. *Pediatric Diabetes* 2008; 9: 464–471.
- 91 Grandone A, Amato A, Luongo C, Santoro N, Perrone L, Giudice EM. High-normal fasting glucose levels are associated with increased prevalence of impaired glucose tolerance in obese children. *J Endocrinol Invest*. 2008; 31: 1098-1102.
- 92 Tirosh A, Shai I, Tekes-Manova D, et al. Israeli Diabetes Research Group. Normal fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes in young men. *N Engl J Med*. 2005; 353: 1454-62.
- 93 Bergstrom A, Skov TH, Bahl MI. Establishment of intestinal microbiota during early life: A longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. *Appl Environ Microbiol*. 2014;80: 2889–2900.
- 94 Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;21,444(7122):1022-3.
- 95 Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, Collini S, Pieraccini G, Lionetti P. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci*. 2010; 107:14691–14696.
- 96 Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005;308(5728):1635-8.
- 97 Hoyles L, McCartney AL. What do we mean when we refer to Bacteroidetes populations in the human gastrointestinal microbiota? *Microbiol Lett*. 2009;299(2):175-83.
- 98 Reicholda A, Brenner SA, Sprussa A, Frommea KF, Bergheimb I, Bischoffa SC. *Bifidobacterium adolescentis* protects from the development of nonalcoholic steatohepatitis in a mouse model. *J of Nut Biochem*. 2014;25:118–125.
- 99 Landgraf K, Friebe D, Ullrich T, Kratzsch J, Dittrich K, Herberth G, Adams V, Kiess W, Erbs S, Körner A. Chemerin as a mediator between obesity and vascular inflammation in children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Apr;97(4):E556-64.
- 100 Slater B, Philippi ST, Marchioni DML, Fisberg RM. Validação de questionários de frequência alimentar - QFA: considerações metodológicas. *Rev Bras Epidemiol* 2003; 6(3):200-208.
- 101 Heyward VH, Stolarczyk LM. Método de dobras cutâneas – Avaliação da composição corporal aplicada. Barueri: Manole. 2000, p. 23-46.
- 102 Hu HJ, Park SG, Jang HB, Choi MK, Park KH, Kang JH, Park SI, Lee HJ, Cho SH. Obesity Alters the Microbial Community Profile in Korean Adolescents. *PLoS One*. 2015 Jul 31;10(7):e0134333.

8 APÊNDICES

APÊNDICE A – TCLE

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr. (a) está sendo convidado (a) a participar da pesquisa “Impacto do sobrepeso e da obesidade sobre a microbiota intestinal infantil e sua relação com os níveis da adipocina chemerin”, de responsabilidade das pesquisadoras: Prof^ª. Dr^ª. Núbia de Souza Lobato e da Mestranda Fernanda Ribeiro de Almeida, inscritas no Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde da Universidade Federal de Goiás - Regional Jataí.

Diante da alta prevalência de obesidade, que tem se tornado um problema de saúde pública no Brasil, a presente pesquisa visa conhecer a realidade de sobrepeso e obesidade entre crianças e adolescentes de até 10 anos de idade, matriculados nas escolas do município de Jataí GO.

O estudo será realizado através dos seguintes procedimentos: entrevista com estudante convidado, ou com os pais/responsáveis legais quando necessário; aferição da pressão arterial; coleta de medidas antropométricas (peso, altura e depósitos de gordura), de amostras de sangue e amostras de fezes das crianças que aceitarem participar da pesquisa. As amostras de sangue serão coletadas por profissionais habilitados para exercer tal função, e posteriormente serão analisadas para verificar a relação entre alguns componentes sanguíneos e o grau de adiposidade.

Durante os procedimentos descritos acima, o voluntário ficará em uma sala reservada, separado dos demais, previamente preparada pelos pesquisadores com o auxílio do coordenador da escola, visando resguardar a privacidade e reduzir a chance de qualquer tipo de constrangimento dos participantes da pesquisa. No ato da entrega desse termo, será entregue um recipiente estéril para que a criança recolha a amostra fecal. A equipe de pesquisa fica responsável por recolher o recipiente com a amostra fecal na residência do aluno, assim que for solicitado pelo responsável através de ligação telefônica. A amostra deverá ser armazenada no refrigerador e entregue em até um dia após a coleta.

A entrevista contará com três questionários destinados ao estudante ou aos pais/responsáveis. O Questionário Alimentar terá perguntas sobre o que a criança comeu no dia anterior (Recordatório de 24 horas) e sobre alguns alimentos consumidos frequentemente pela criança (Inquérito de Frequência Alimentar). O Questionário Social será sobre a posse de alguns itens como geladeira, televisão, rádio; e o Questionário de

Atividade Física irá perguntar sobre as atividades realizadas no dia anterior, antes, durante e depois da escola.

O diretor (a) da escola em que seu filho está matriculado encontra-se ciente de todas as etapas envolvidas nesta pesquisa e concordou em participar na realização.

Os resultados serão utilizados apenas para os fins da pesquisa e para publicações científicas posteriores, sendo que nenhum voluntário será identificado e seus dados pessoais serão mantidos em sigilo total.

Não haverá nenhuma despesa com a participação do seu filho (a), que é totalmente voluntária. Estamos dispostos a prestar qualquer esclarecimento às dúvidas sobre o andamento da pesquisa. O convidado tem plena liberdade para recusar sua participação em qualquer fase da pesquisa, sem haver penalização ou prejuízo.

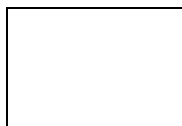
Você ficará com uma via deste termo e qualquer dúvida a respeito da pesquisa, poderá ser esclarecida diretamente com: Núbia de Souza Lobato, fone (64) 8108-5436 ou Fernanda Ribeiro de Almeida, fone (64) 9606-2065, através de ligação a cobrar. As objeções a respeito da conduta ética poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa, no email cep.prppg.ufg@gmail.com ou pelo telefone (62) 3521-1215.

Eu, _____, RG
nº _____, declaro ter recebido todas as informações necessárias à realização
deste trabalho e sendo o responsável legal pelo
aluno _____, autorizo a
participação dele como voluntário do projeto de pesquisa acima descrito.

Jataí, ____ de _____ de _____.

Assinatura do Participante da pesquisa

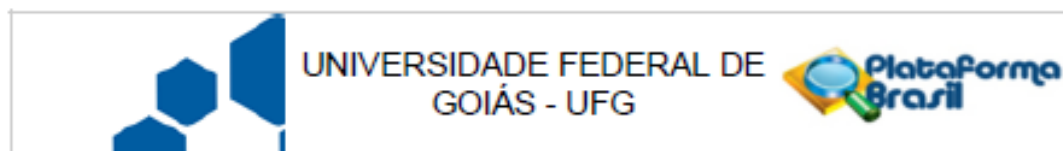
Assinatura dactiloscópica:



Núbia de Souza Lobato
Coordenadora da Pesquisa

9 ANEXOS

ANEXO I – Parecer consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Impacto do sobrepeso e da obesidade sobre a microbiota intestinal infantil e sua relação com os níveis da adipocina chemerin

Pesquisador: Fernanda Ribeiro de Almeida

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53539516.5.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.702.981

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo transversal, no qual serão levantados parâmetros antropométricos e biológicos de 200 crianças de até 12 anos de idade, de ambos os sexos, matriculadas nas instituições de ensino público e privado de Jataí-GO. A coleta em cada instituição ocorrerá após a aprovação pelo CEP/UFG e obedecerá à ordem de sorteio. Com isso, visa avaliar o efeito do sobrepeso e da obesidade infantil sobre a composição da microbiota do trato gastrointestinal e relacionar com os níveis sanguíneos da adipocina chemerin. Para isso, serão enviadas cartas/convite para as mães e/ou responsáveis de cada criança ou adolescente sorteado para que compareçam à respectiva escola (em dia e horários estabelecidos de acordo com a disponibilidade local) caso concordem em participar da pesquisa. As entrevistas serão realizadas por membros da equipe integrante do projeto, os quais serão previamente treinados para a aplicação dos questionários e aferição das medidas antropométricas, bem como da pressão arterial. As entrevistas serão realizadas com os responsáveis pelas crianças. As coletas de sangue serão realizadas por um profissional biomédico com experiência comprovada em coletas de sangue, membro da equipe executora deste projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo primário:

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prplufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.702.981

Avaliar o efeito do sobrepeso e da obesidade infantil sobre a composição da microbiota do TGI e relacionar com os níveis sanguíneos da adipocina chemerin.

Objetivos secundários:

1. Caracterizar a amostra quanto aos aspectos socioeconômicos e demográficos;
2. Conhecer os comportamentos alimentares e de atividade física;
3. Avaliar características antropométricas;
4. Determinar os níveis pressóricos;
5. Avaliar o perfil lipídico, a glicemia e os níveis plasmáticos de chemerin;
6. Analisar a composição da microbiota fecal;
7. Investigar possíveis associações entre a variável dependente "níveis de adipocina chemerin" e as variáveis independentes - "sexo; variáveis antropométricas da criança (circunferência do braço, da cintura, do abdômen, do quadril e pregas cutâneas); níveis pressóricos; perfil lipídico e níveis glicêmicos;
8. Investigar possíveis associações entre a variável dependente "composição da microbiota intestinal" e as variáveis independentes - "sexo; variáveis antropométricas da criança (circunferência do braço, da cintura, do abdômen, do quadril e pregas cutâneas); níveis pressóricos; perfil lipídico e níveis glicêmicos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco:

- haverá necessidade de coleta de sangue após jejum. As coletas de sangue podem apresentar riscos inerentes como: hematomas, dor e desconforto no local da punção. As amostras serão coletadas por um biomédico devidamente capacitado, visando minimizar tais riscos.

Benefício:

Os benefícios do estudo proposto justificam os riscos uma vez que o voluntário terá seus exames físicos e parâmetros biológicos avaliados gratuitamente pelos pesquisadores, juntamente com a investigação da etiologia da obesidade e complicações metabólicas que podem estar associadas ao alto grau de adiposidade ainda na fase jovem. Adicionalmente, a obtenção de amostras nesta população de estudo poderá contribuir de modo inédito para a elucidação dos mecanismos envolvidos na relação entre obesidade infantil e doenças cardiovasculares, podendo culminar em estratégias de prevenção dessas morbidades. Além disso, a pesquisa possibilitará o benefício da triagem, onde os participantes que apresentarem quadro de hipertensão, sobrepeso ou obesidade, serão alertados e encaminhados à avaliação e assistência médica para maiores investigações.

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.702.981

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto que abordará temática relevante relacionada aos fatores de risco em crianças com sobrepeso e obesas, ainda pouco explorada. Sua realização contribuirá com informações para o diagnóstico e controle da obesidade na infância e assim instigar investigações de controle da progressão da doença para a fase adulta. Quanto aos aspectos metodológicos, haverá entrevista, necessidade de coleta de sangue em jejum e coleta de material biológico (fezes) para análise. Durante os procedimentos de medidas antropométricas e entrevistas, o voluntário ficará em uma sala reservada, separado dos demais, previamente preparada pelos pesquisadores com o auxílio do coordenador da escola, visando resguardar a privacidade e reduzir a chance de qualquer tipo de constrangimento dos participantes da pesquisa. Será entregue um manual de instruções com para a realização da coleta da amostra fecal, juntamente com um par de luvas, uma espátula e um recipiente estéril para que a criança recolha a amostra fecal. O recipiente com o material será recebido pela equipe em tempo pré-agendado com o responsável pela criança. Não haverá retenção de amostras para armazenamento em banco. Foi garantido a devolutiva das informações coletadas individualmente. Em casos específicos, serão encaminhados às especialidades médicas pertinentes. O orçamento está respaldado por financiamento de projeto anterior, por verba solicitada e por estrutura laboratorial já existente. A data proposta para o início da coleta dos dados será em agosto/2016.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo está devidamente instruído. Houve elaboração do TCLE e do TALE. Há garantia de anonimato, acessibilidade, informação sobre os passos metodológicos, riscos e benefícios. Houve anuência da direção de uma escola para a realização da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Em seguida, reportamos as reconsiderações da lista de inadequação realizadas pelos pesquisadores:

1) Recomendação: Solicitar a anuência ao secretário municipal de educação para a realização da pesquisa, pois envolverá instituições públicas.

Item inserido: Foi inserido o arquivo "Termo_de_anuencia_SME" (Secretaria Municipal de Educação), com a anuência da secretária da educação do município de Jataí, estado de Goiás, para a realização desta pesquisa em instituições públicas deste município.

2) Recomendação: Corrigir disparidade na informação sobre o tamanho amostral (200 ou 150?).

Itens modificados: Foi realizada modificação no cadastro de projeto de pesquisa, na

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.pplufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.702.981

Plataforma Brasil, item: "Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro". Onde constavam três grupos, 50 integrantes para cada grupo, totalizando 150. Foi adequado para 67 participantes compondo o grupo de eutróficos, 67 compondo o grupo de obesos, e 66 participantes compondo o grupo sobrepeso. Os grupos permanecem os mesmos, apenas a quantidade de participantes foi modificada, visando adequação à amostra de 200 participantes, proposta na folha de rosto desta pesquisa, assim como no próprio cadastro de projeto de pesquisa no item "Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa".

3) Recomendação: Corrigir disparidade na informação sobre o orçamento (R\$ 14.700,00 ou 78.229,00?).

Itens modificados: A modificação consta no arquivo "Projeto_de_Pesquisa", que foi editado e enviado em anexo, página 27, item 7.2, referente à soma dos valores de capital. O valor total foi adequado para R\$ 60.700,00, que quando somado com os valores de custeio, apresentados no item 7.1, resultam em um valor de custeio + capital = 78.229,00.

4) Recomendação: Corrigir disparidade na informação sobre o período de abstinência alimentar (8 ou 12 horas).

Itens modificados: A modificação consta no arquivo "Projeto_de_Pesquisa", que foi editado e enviado em anexo, página 18, item 3.6, referente a determinação dos parâmetros biológicos. O período de abstinência alimentar foi alterado, de oito horas para doze horas, conforme consta também no termo de assentimento livre e esclarecido (arquivo "TALE").

5) Recomendação: Especificar qual será a idade mínima do escolar participante e verificar se o TALE apresenta linguagem acessível à faixa etária compreendida na pesquisa.

Itens modificados: Modificação no arquivo "Projeto_de_Pesquisa", que foi editado e enviado em anexo, página 14, item 3.3.1, referente aos critérios de inclusão. A faixa etária foi adequada, especificando a idade mínima de dois anos, conforme consta também no termo de consentimento livre e esclarecido. Modificação no arquivo "TALE" (Termo de Assentimento Livre e Esclarecido), adaptando todo o documento para uma linguagem mais acessível à idade compreendida. O TALE será aplicado, conforme orientação do comitê de ética em pesquisa em questão, aos voluntários com idade

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.prplufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.702.981

superior á cinco anos até a idade máxima compreendida na pesquisa, que são de doze anos incompletos.

6) **Recomendação:** Mencionar no corpo de projeto o produto que será gerado com a publicação dos resultados (por exemplo, dissertação, artigo, comunicações orais, etc).

Item inserido: A inserção consta no arquivo "Projeto_de_Pesquisa", que foi editado e enviado em anexo, página 22, item 4, referente aos resultados esperados, onde foi acrescentado o tópico: Exposição dissertativa desta pesquisa e de seu produto, ao programa de pós-graduação em ciências aplicadas à saúde, da Universidade Federal de Goiás - Regional Jataí.

7) **Recomendação:** Oferecer suporte alimentar logo após a coleta da amostra de sangue.

Itens inseridos: Foi inserido no TALE, terceiro parágrafo: "Antes de coletarmos o sangue, você e seus coleguinhas vão participar de brincadeiras e assim que terminar de colher o sangue vai ter lanche e cada um volta para a aula".

Inserção no arquivo "Projeto_de_Pesquisa", que foi editado e enviado em anexo, página 18, item 3.6, referente a determinação dos parâmetros biológicos, onde foi acrescentada a garantia de suporte alimentar: "Logo após a coleta de sangue será oferecido suporte alimentar às crianças".

8) **Recomendação:** Especificar qual e como será o procedimento adotado após a coleta de sangue que se caracterize como emergência.

Itens inseridos e modificados: A inserção consta no arquivo "Projeto_de_Pesquisa", que foi editado e enviado em anexo, página 20, item 3.10, referente aos riscos e benefícios, onde foram acrescentados os procedimentos adotados caso ocorra um dos riscos associados a esse tipo de procedimento. "As coletas de sangue venoso podem apresentar riscos inerentes como: hematomas, dor e desconforto no local da punção. A formação de hematoma é a complicação mais comum da punção venosa. Caso a formação do hematoma seja identificada durante a punção, imediatamente o torniquete e a agulha serão retirados, em seguida, será realizada compressão local durante pelo menos dois minutos. A dor no ato e após a punção é de baixa intensidade e suportável, porém, a criança será tranquilizada antes da coleta, o que auxilia sobremaneira no seu relaxamento, tornando o procedimento menos doloroso. Serão previamente preparados materiais para realização de compressas frias caso o participante se queixe de dor no local da punção após a coleta. A criança será orientada a não realizar movimentos

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131

Bairro: Campus Samambaia

CEP: 74.001-970

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3521-1215

Fax: (62)3521-1163

E-mail: cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.702.981

bruscos durante o procedimento e será acompanhada por um dos pesquisadores, além de biomédico devidamente capacitado, este será responsável por coletar as amostras, visando minimizar tais riscos.”

OBSERVAÇÕES

Devido intercorrências com o acesso à Plataforma Brasil, as pendências não foram atendidas no prazo. Realizamos alterações no cronograma da pesquisa, para que seja possível a execução do projeto a partir da possível aprovação, segue alterações.

Itens modificados: a) Modificação consta no arquivo “Projeto_de_Pesquisa”, que foi editado e enviado em anexo, página 25, item 8, referente ao plano de trabalho e cronograma de execução do projeto. Onde, as etapas de coleta que ocorreriam a partir de agosto de 2016, ocorrerão nos semestres seguintes, correspondendo ao terceiro e quarto semestre, no decorrer de dois anos.

b) Foi realizada modificação no cronograma do cadastro de projeto de pesquisa na Plataforma Brasil, alterando as datas das etapas: “Realização das medidas antropométricas, aferição da pressão arterial, entrevistas, coleta de amostras de sangue e coleta das amostras fecais das crianças”, que seriam entre 08/08/2016 e 09/12/2016, alteradas então para 17/10/2016 à 16/12/2016.

c) Foi adicionado ao cronograma do cadastro de projeto de pesquisa na Plataforma Brasil, o item: “Revisão do atendimento às pendências pelo comitê de ética em pesquisa”, compreendendo o período de 16/08/2016 à 11/10/2016. A equipe de pesquisa garante que as coletas só serão realizadas após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para agosto de 2017.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço:	Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro:	Campus Samambala
UF: GO	Município: GOIANIA
Telefone:	(62)3521-1215
Fax:	(62)3521-1163
E-mail:	cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.702.981

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_662678.pdf	16/08/2016 04:40:57		Aceito
Outros	Documento_apresentacao_atendimento_pendenciasCEP.pdf	16/08/2016 04:40:14	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Outros	TALE.pdf	16/08/2016 04:38:01	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_anuencia_SME.pdf	16/08/2016 04:37:21	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_de_Pesquisa.pdf	16/08/2016 04:32:47	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_compromisso.PDF	24/02/2016 21:57:18	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Outros	Termo_de_Anuencia.pdf	24/02/2016 21:55:51	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	24/02/2016 21:53:32	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Outros	Lista_de_Atividade_Fisica_Secao_A.pdf	16/02/2016 20:14:41	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Outros	Lista_de_Atividade_Fisica_Secao_B.pdf	16/02/2016 20:14:01	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Outros	Questionario_Alimentar.pdf	16/02/2016 20:12:56	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Outros	Questionario_Social.pdf	16/02/2016 20:12:33	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRosto.PDF	15/02/2016 23:44:16	Fernanda Ribeiro de Almeida	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 30 de Agosto de 2016

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia CEP: 74.001-970
UF: GO Município: GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 Fax: (62)3521-1163 E-mail: cep.prpl.ufg@gmail.com

ANEXO II- Manual para coleta de amostra fecal



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS/ REGIONAL JATAÍ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS
À SAÚDE**



Senhores pais,

Estamos enviando os resultados dos exames realizados no primeiro semestre desse ano, que teve o objetivo de avaliar o excesso de peso e os riscos cardiovasculares em crianças. Entraremos em contato para esclarecer os resultados que apresentaram alterações.

Contamos com a participação do seu filho (a) na última etapa da pesquisa. Esta fase é muito importante, pois nela analisaremos a presença de diferentes bactérias no intestino das crianças. Para isso, é necessária a coleta de uma pequena amostra de fezes.

Foi entregue um recipiente estéril identificado para a criança. Por gentileza, auxilie o seu filho (a) a recolher a amostra de fezes, seguindo os seguintes passos:

1. As fezes devem ser feitas em uma vasilha de plástico limpa e seca ou em cima de um papel ou plástico limpo;
2. Use as luvas e a pazinha para pegar uma pequena quantidade de fezes;
3. Não recolha a porção de fezes que estiver encostada na vasilha de plástico ou no papel. Recolha apenas a parte de cima das fezes.
4. Coloque as fezes dentro do pote que foi entregue;
5. Feche e guarde na geladeira.
6. Envie para a escola através do seu filho.

Recolheremos o recipiente em sala de aula, na sexta-feira dia 11/09/15. Caso seu filho (a) não consiga produzir a amostra até esse dia, passaremos nas salas de aula também na segunda-feira (14/09) e na terça-feira (15/09).

Qualquer dúvida a respeito da pesquisa poderá ser esclarecida diretamente com os pesquisadores responsáveis: Núbia de Souza Lobato, fone (64) 8454-7854, Fernanda Ribeiro de Almeida, fone (64) 9606-2065/ (64) 3631-0326, ou Polliana Conceição Garcia, fone (64) 9998-7176, através de ligação a cobrar.

Jataí, 10 de Setembro de 2015.

ANEXO III – Questionário social

Questionário Social

Data da entrevista ___/ ___/ ___

Nome da criança: _____

DN: ___/ ___/ ___ Peso ao nascer: _____kg Compr. ao Nascer _____cm

Tempo de amamentação: Exclusiva _____ meses

Total _____ meses

Nome da mãe: _____

Endereço: _____

Telefone: _____

Em qual período a criança vai à escola? _____

Quem cuida da criança quando ela está em casa? _____

Tendo sido devidamente informado (a) dos objetivos e procedimentos da pesquisa “Impacto da microbiota intestinal sobre marcadores de adiposidade e fatores de risco cardiovascular em crianças: uma contribuição da adipocina chemerin” autorizo o (a) menor _____ a participar de todos os procedimentos.

Nome e assinatura do responsável
(grau de parentesco com a criança)

Jataí, _____ de _____ de 2015.

“Quais as pessoas que moram nessa casa? Qual a idade e relação das pessoas que moram na casa com a criança?”

	Nome	Relação de parentesco com a criança	Idade
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Classificação da Família _____

1. Quantas pessoas moram na casa onde a criança mora? _____ pessoas

2. Quais dos itens abaixo existem na casa em que a criança mora e em que número?

Posse de itens	Não tem	Tem			
		1	2	3	4 ou +
Televisão em cores		2	3	4	5
Rádio		1	2	3	4
Banheiro		2	3	4	4
Automóvel		2	4	5	5
Empregada mensalista		2	4	4	4
Aspirador de pó		1	1	1	1

Maquina de lavar ou tanquinho		1	1	1	1
Videocassete e/ou DVD		2	2	2	2
Geladeira		2	2	2	2
Freezer (aparelho independente ou parte da duplex)		1	1	1	1

3. Quem é o chefe da família da criança? (em relação a criança)

pai tio/ tia irmãos mais velhos

mãe avô/ avó outros _____

4. Até que série ele (ela) estudou _____ série _____ grau

Grau de instrução do chefe de Família	Pontos
Analfabeto/ Primário incompleto	0
Primário completo/ Ginásial incompleto	1
Ginásial completo/ Colegial incompleto	2
Colegial completo/ Superior incompleto	3
Superior completo	5

5. Até que grau a mãe da criança estudou? _____ série _____ grau

CLASSIFICAÇÃO

Classificação Critério Brasil

Classes	Pontas	Renda média Familiar(R\$)
A1	30 a 34	7.793
A2	25 a 29	4.648
B1	21 a 24	2.804
B2	17 a 20	1669
C	11 a 16	927
D	6 a 10	424
E	0 a 5	207

ANEXO IV – Inquérito de frequência alimentar

Questionário Alimentar – Inquérito de Frequência Alimentar

“Descreve com que frequência que a criança come ou bebe esses alimentos”

Alimentos	Todos os dias	1x/ semana	2 a 3x/ semana	4 a 5x/ semana	1x a cada 15 dias	1x/ mês	Raramente	Nunca
Carnes								
Linguiça								
Salsicha								
Ovos								
Feijão								
Leite								
Queijos, iogurte, requeijão								
Verduras e legumes								
Frutas								
Arroz								
Macarrão								
Sopas								
Pão								
Bolachas								
Doces								
Refrigerantes								
Salgadinhos tipo chips								
Frituras								
Margarina ou Manteiga								
Maionese								
Suco artificial								

ANEXO V – Lista de Atividades Físicas (LAF)

tempo, em minutos, para cada atividade física relatada pela criança nas colunas B, D e G. Use uma folha em branco para auxiliar na soma de minutos de cada atividade realizada. Coloque um traço se a atividade física não foi realizada. Ao final de cada entrevista, preencha a Seção C, o horário de término e o número de identificação da criança (ID) nos campos específicos localizados no topo de cada folha. Não anotar nada fora dos campos específicos do questionário LAF. Deve-se iniciar a entrevista identificando-se.

INSTRUÇÕES PARA ENTREVISTA

I. INTRODUÇÃO

Vamos conversar sobre a atividade física que você fez ONTEM. Que dia da semana foi ontem? Atividade física é o movimento do corpo em que você mexe seus braços e pernas. Em algumas atividades físicas, você se movimenta de um lugar para outro, como correr ou caminhar. Que outras atividades físicas são assim? Algumas atividades físicas podem ser feitas sem sair do lugar, como polichinelos e abdominais. Você pode me dizer outras atividades físicas que podem ser feitas sem sair do lugar?

II. TEMPO

Vamos perguntar quanto tempo de atividade física você fez ontem. O relógio vai ajudá-lo a nos dizer [neste momento, o entrevistador mostra à criança um círculo em forma de relógio com 60 minutos e figuras geométricas que representam 30, 15 e 5 minutos] **. Quantos minutos têm este relógio todo? O que dura 60 minutos? Algumas coisas duram 30 minutos. Qual destes pedaços representa 30 minutos? [A criança segura o relógio, e coloca as peças nos lugares corretos]. O que você conhece que dura 30 minutos? Qual pedaço representa 15 minutos? O que você conhece que dura 15 minutos? Quantos minutos duram este último pedaço? [mostrar o pedaço correspondente a 5 minutos]. O que você conhece que dura 5 minutos? Queremos que você nos conte as atividades físicas que você fez ontem e que duraram 5 minutos ou mais. Vamos ver se conseguimos ter uma idéia do que dura 5 minutos ou mais.

Comercial de TV? (Criança responde mais ou menos que 5 minutos?)

Caminhar do carro até a escola? (mais ou menos que 5 minutos?)

Escovar os dentes? (mais ou menos que 5 minutos?)

Recreio? (mais ou menos que 5 minutos?)

Almoçar? (mais ou menos que 5 minutos?)

Você pode fazer uma atividade física por 5, 10, 20 ou mais de 60 minutos.

A. Antes da Escola

Pense sobre ontem no período antes da escola. Este período vai desde que você acordou até o sinal da escola tocar para a aula começar e inclui atividades realizadas antes da aula começar. O que você fez de modo geral ontem antes de ir para a escola? Algo especial antes da escola? Pense nas atividades físicas que você fez por 5 minutos ou mais ontem, antes da escola. [Use a lista de atividades do início ao fim perguntando somente sobre ontem ANTES DA ESCOLA. Dê uma breve explicação antes de perguntar sobre Caminhada, Corrida e Combinação de Caminhada e Corrida. Para cada atividade referida, pergunte se eles sentiram sinais corporais de "dificuldade para respirar" ou "sensação de cansaço" nunca, às vezes ou na maior parte do tempo, anotando as iniciais N para nunca, AV para às vezes e MPT para maior parte do tempo nas colunas C, E e H].

- 1 Você _____ ontem antes da escola por 5 minutos ou mais?
- 2 Quantos minutos você realmente gastou _____?
- 3 Durante os _____ minutos em que você esteve _____, você sentiu "dificuldade para respirar" ou "sensação de cansaço" nunca, às vezes ou na maior parte do tempo?
- 4 Você _____ outras vezes antes da escola? (Caso a resposta seja afirmativa, repita a questão 2 perguntando Quantos minutos você realmente gastou DESSA VEZ, e anote na folha auxiliar. Some os minutos e anote no questionário o tempo total)

[Somente para a atividade Exercícios: flexões de braço, abdominais, polichinelos] Você incluiu em alguma outra atividade esse tempo que ficou realizando esses exercícios? Caso afirmativo, pergunte "Qual atividade você fez?" e repita as perguntas de 2 a 4.

* Antes de perguntar sobre o tempo de CAMINHADA e CORRIDA, explique:

Nós caminhamos e corremos muitas vezes durante o dia. Grande parte dessas atividades é curta, não duram nem 5 minutos. Vamos falar sobre o que você fez por 5 minutos ou mais, como fazer uma caminhada, andar até algum lugar ou levar seu cachorro para passear.

Antes de ir para escola, você caminhou por mais de 5 minutos seguidos? Quando foi a primeira vez que você caminhou por mais de 5 minutos seguidos? Segunda vez? Alguma vez mais? Você incluiu em alguma outra atividade esse tempo que ficou caminhando? [anote o número de vezes, some-as e faça um círculo no total].

[Repetir a seqüência de perguntas para a atividade Corrida].

para a aula começar até o sinal da escola tocar para a aula acabar. Durante a escola, não é necessário perguntar sobre a atividade de número 17].

1 Você _____ ontem durante a escola por 5 minutos ou mais?

[Para as atividades Exercícios, Caminhada, Corrida e Combinação de caminhada e corrida, perguntar se a criança já incluiu em outra atividade o tempo que ela gastou nessas atividades]

2 Quantos minutos você realmente gastou _____?

3 Durante os _____ minutos em que você esteve _____, você sentiu "dificuldade para respirar" ou "sensação de cansaço" nunca, às vezes ou na maior parte do tempo?

4 Você fez essa atividade durante o Recreio, Educação Física ou em outro momento após o sinal tocar para a aula começar? [Na coluna F, codifique EF e o número de minutos das atividades físicas realizadas durante a Educação Física; R e o número de minutos das atividades realizadas durante o recreio; NA e o número de minutos das atividades realizadas em qualquer outro momento durante o período escolar]

5 Além do que já foi dito, você fez algum outro curso, aulas extras ou treinos ontem durante a escola?

C. Depois da Escola

Esse é o período de tempo desde o sinal da escola tocar para a aula acabar até você ir dormir e inclui atividades realizadas na escola após o sinal tocar para a aula acabar. [Use a lista de atividades e pergunte sobre as realizadas ontem DEPOIS DA ESCOLA].

1 Você _____ ontem, por 5 minutos ou mais, depois da escola?

[Para as atividades Exercícios, Caminhada, Corrida e Combinação de caminhada e corrida, perguntar se a criança já incluiu em outra atividade o tempo que ela gastou nessas atividades.]

2 Quantos minutos você realmente gastou _____?

3 Durante os _____ minutos em que você esteve _____, você sentiu "dificuldade para respirar" ou "sensação de cansaço" nunca, às vezes ou na maior parte do tempo?

ESCOLA.

Você assistiu televisão/vídeo por 5 minutos ou mais antes da escola ontem? Quanto tempo você ficou assistindo televisão/vídeo? Quais programas você assistiu? Você usou computador ou videogame por mais de 5 minutos ontem antes da escola? Quanto tempo ficou no computador ou videogame?

Agora vou lhe perguntar sobre televisão/vídeo e computador ou videogames DEPOIS DA ESCOLA.

Você assistiu à televisão/vídeo por 5 minutos ou mais depois da escola ontem? Quanto tempo você ficou assistindo à televisão/vídeo? A quais programas você assistiu? Você usou computador ou videogame por mais de 5 minutos ontem depois da escola? Quanto tempo ficou ao computador ou videogame?

Seção A: DADOS INICIAIS DA ENTREVISTA

A1. Etiqueta com dados da criança (nome, sexo, id, turma, série)
A2. Iniciais do entrevistador: _____
A3. Data da entrevista: ____/____/____
A4. Hora de início da entrevista: ____ hr ____ min
A5. Hora de término: ____ hr ____ min
A6. Pergunte à criança: você teve aula de educação física ontem? Não.....1 Sim.....2
A7. Em caso afirmativo, quantos minutos durou a aula de educação física? ____ min

* Adaptado de *Physical Activity Checklist Interview*: Sallis JF, Strikmiller PK, Harsha DW, et al. Validation of interviewer-and self-administered physical activity checklists for fifth grade students. *Med Sci Sports Exerc* 1996; 28(7):840-51.

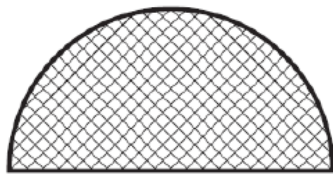
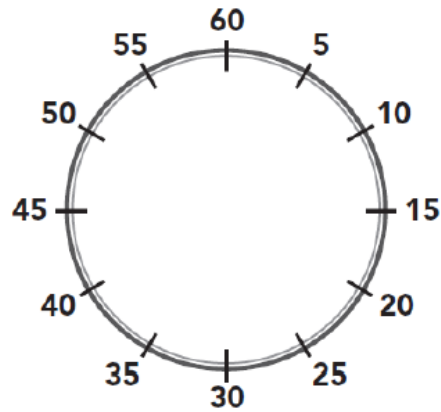
** Ver esquema do relógio em anexo.

A. Atividade							
1	Andar de bicicleta						1
2	Natação						2
3	Ginástica olímpica: barras, trave de equilíbrio, acrobacias, trampolim						3
4	Basquete						4
5	Beisebol/Softebol						5
6	Futebol americano						6
7	Futebol						7
8	Voleibol						8
9	Esportes com raquete: tênis, badminton						9
10	Jogos com bola: queimada, taco, jogo de atirar e apanhar a bola						10
11	Brincadeiras: pega-ladrão, pega-pega, amarelinha, parquinho						11
12	Brincadeiras ao ar livre: subir em árvores, esconde- esconde						12
13	Jogos aquáticos: piscina ou lago						13
14	Pular corda						14
15	Dança						15
16	Tarefas ao ar livre: cortar grama, juntar grama, jardinagem, lavar carro, lavar calçada						16
17	Tarefas dentro de casa: passar pano no chão, passar aspirador, varrer						17
18	Exercícios: flexões de braço, abdominais, polichinelos						18
19	Caminhada						19
20	Corrida						20
21	Combinação de Caminhada e Corrida						21
22	Outros (Algum curso, aulas extras ou treinos?)						22
23							23
24							24

Televisão/Vídeo

Antes da escola		Depois da escola	
1.1	horas minutos	1.2	horas minutos

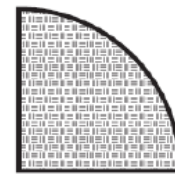
1. Assuma que a maioria das brincadeiras/jogos não é contínua. Não é necessário investigar o tempo parado em jogos como pique-bandeira, queimada ou jogos de revezamento.
2. Pergunte sobre tempo de descanso (de pausa). Subtraia do total e dê uma informação de retorno.
3. Se forem mencionados treinos, subdivida-os e pergunte as características particulares. Faça anotações específicas separadamente.
4. Se um esporte praticado não for parte de um treino oficial de uma equipe, pergunte quanto tempo a criança esteve “no jogo” ou “realmente jogou”.



30 MINUTOS



5 MINUTOS



15 MINUTOS

ANEXO VI- Tabela 4. Consumo alimentar segundo o perfil nutricional

	Nunca	Raramente	1x no mês	2x no mês	1x na semana	2-3x na semana	4-5x na semana	Todo dia
Carnes								
Controle	-	-	-	-	3,9	15,7	25,5	54,9
Excesso de Peso	1,5	-	-	-	10,8	23,1	20,0	44,6
Linguixa								
Controle	9,8	15,7	13,7	25,5	25,5	5,9	2,0	2,0
Excesso de Peso	18,5	18,5	9,2	24,6	20,0	7,7	1,0	-
Salsicha								
Controle	19,6	27,5	19,6	9,8	17,6	5,9	-	-
Excesso de Peso	18,5	27,7	13,8	23,1	10,8	4,6	-	1,5
Ovos								
Controle	9,8	9,8	2,0	21,6	33,3	15,7	5,9	2,0
Excesso de Peso	18,5	7,7	7,7	13,8	21,5	13,8	10,8	6,2
Feijão								
Controle	7,8	-	-	2,0	5,9	7,8	9,8	66,7
Excesso de Peso	1,5	1,5	1,5	-	1,5	6,2	-	87,7
Leite								
Controle	13,7	3,9	2,0	5,9	3,9	9,8	5,9	54,9
Excesso de Peso	6,2	1,5	-	4,6	16,9	9,2	9,2	52,3
Derivado Lácteo								
Controle	7,8	3,9	13,7	15,7	23,5	25,5	3,9	5,9
Excesso de Peso	12,3	6,2	7,7	23,1	27,7	13,8	3,1	6,2
Verduras/ Legumes								
Controle	3,9	3,9	-	3,9	11,8	23,5	19,6	33,3
Excesso de Peso	3,1	-	1,5	1,5	10,8	40,0	10,8	32,3
Frutas								
Controle	-	-	2,0	13,7	9,8	29,4	17,6	27,5
Excesso de Peso	-	-	-	9,2	21,5	33,8	9,2	26,2
Arroz								
Controle	-	-	-	-	-	2,0	-	98,0
Excesso de Peso	-	-	-	-	1,5	4,6	-	93,8
Macarrão								
Controle	-	2,0	3,9	17,6	25,5	39,2	7,8	3,9
Excesso de Peso	6,2	1,5	6,2	10,8	33,8	36,9	4,6	-
Sopa								
Controle	15,7	35,3	19,6	7,8	17,6	3,9	-	-

Excesso de Peso	13,8	33,8	12,3	10,8	12,3	13,8	3,1	-
Pão								
Controle	3,9	-	2,0	2,0	5,9	33,3	11,8	41,2
Excesso de Peso	3,1	-	-	3,1	9,2	38,5	18,5	27,7
Bolacha								
Controle	2,0	2,0	-	5,9	17,6	39,2	9,8	23,5
Excesso de Peso	1,5	-	3,1	6,2	16,9	32,3	16,9	23,1
Doces								
Controle	-	3,9	2,0	7,8	29,4	25,5	13,7	17,6
Excesso de Peso	3,1	3,1	-	3,1	26,2	29,2	15,4	20,0
Refrigeran- tes								
Controle	2,0	2,0	3,9	2,0	31,4	43,1	3,9	11,8
Excesso de Peso	1,5	-	1,5	3,1	33,8	44,6	7,7	7,7
Salgadi- nhos								
Controle	11,8	13,7	13,7	17,6	11,8	17,6	5,9	7,8
Excesso de Peso	7,7	4,6	21,5	20,0	24,6	15,4	3,1	3,1
Frituras								
Controle	-	5,9	7,8	21,6	29,4	23,5	7,8	3,9
Excesso de Peso	3,1	3,1	10,8	20,0	38,5	20,0	1,5	3,1
Margarina/ Manteiga								
Controle	11,8	2,0	2,0	-	9,8	31,4	11,8	31,4
Excesso de Peso	13,8	6,2	1,5	-	15,4	29,2	12,3	21,5
Maionese								
Controle	19,6	15,7	9,8	13,7	19,6	11,8	2,0	7,8
Excesso de Peso	16,9	13,8	9,2	20,0	15,4	20,0	-	4,6
Suco artificial								
Controle	2,0	3,9	2,0	3,9	7,8	27,5	23,5	29,4
Excesso de Peso	1,5	1,5	1,5	-	7,7	35,4	21,5	30,8

ANEXO VII – Valores de referência

A - Valores referenciais do perfil lipídico para a faixa etária entre 2 e 19 anos

Variáveis Lipídicas	Valores (mg/dl)		
	Desejáveis		Limítrofes
CT	< 150	150-169	>
	170		
LDL	< 100	100-129	>
	130		
HDL	> 45		
TG	< 100	100-129	>
	130		

CT= Colesterol Total; LDL= Low Density Lipoprotein; HDL= High Density Lipoprotein; TG= Triglicerídeos.