



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E NUTRIÇÃO



BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍDUOS ADULTOS COM SOBREPESO E OBESIDADE

Laís Roquete Lopes

Ouro Preto -MG

2014

LAÍS ROQUETE LOPES

**BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍDUOS ADULTOS
COM SOBREPESO E OBESIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em saúde e nutrição.

Área de concentração: Bioquímica e fisiologia da nutrição.

Orientador: Prof. André Talvani

Co-orientadora: Silvana Mara Luz Turbino Ribeiro

OURO PRETO – MG

L658I Lopes, Laís Roquete.
 Biomarcadores inflamatórios em indivíduos adultos com sobrepeso e obesidade/ Laís
 Roquete Lopes. - 2014.
 50 f.: il. color.; graf.; tabs.

Orientador: Prof^o Dr André Talvani Pedrosa da Silva.
Co-orientadora; Prof^a Dr^a Silvana Mara Luz Turbino Ribeiro.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de
Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.
Área de concentração: Bioquímica e Fisiopatologia da Nutrição

1. Obesidade - Teses. 2. Quimiocinas - Teses. 3. Biomarcadores
inflamatórios - Teses. I. Silva, André Talvani Pedrosa da. II. Ribeiro, Silvana
Mara Luz Turbino. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 612.43

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



Mestrado Saúde e Nutrição



Universidade Federal de Ouro Preto

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aos vinte e cinco dias do mês de fevereiro de dois mil e catorze, às nove horas e trinta minutos, no Auditório da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, realizou-se a defesa da dissertação de mestrado da aluna **Laís Roquete Lopes**. A banca examinadora, definida anteriormente, foi composta pelos Professores Daniela Caldeira Costa (UFOP), Juliana de Assis Gomes Estanislau (UFMG) e André Talvani Pedrosa da Silva (UFOP). Dando início ao exame, a aluna apresentou sua dissertação de mestrado intitulada: “BIOMARCADORES INFLAMATÓRIOS EM INDIVÍDUOS ADULTOS COM SOBREPESO E OBESIDADE”. Após a apresentação, a candidata foi arguida pela banca que avaliou o domínio do conteúdo metodológico e teórico relacionado à dissertação. Após julgamento, os membros da banca decidiram por:

APROVAR

REPROVAR

Profa. Dra. Daniela Caldeira Costa (UFOP),
Examinadora Interna.

Profa. Dra. Juliana de Assis Gomes Estanislau (UFMG),
Examinadora Externa.

Prof. Dr. André Talvani Pedrosa da Silva (UFOP),
Orientador.

Laís Roquete Lopes (UFOP),
Mestranda.

Dedicatória

*Aos meus pais e irmã, pelo carinho,
apoio e incentivo sempre.*

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. André Talvani, pelo seu amor e dedicação à pesquisa e a arte de ensinar.
Por ter dado um significado muito especial à palavra orientador, sempre demonstrando muito carinho, incentivo e competência para realização deste trabalho. Obrigada pela oportunidade e confiança em mim depositada.

AGRADECIMENTOS

Á Deus pela vida e conquistas realizadas.

Aos meus pais pelo amor, ensinamentos, apoio e incentivo constante para a realização dos meus sonhos.

A minha irmã e familiares, em especial minhas avós e madrinha, pelo carinho e orações.

As minhas colegas de graduação, Tatiane e Fernanda, por continuarem sendo amigas e companheiras; as colegas da pós-graduação por me acompanharem durante a realização deste trabalho; as meninas quem moraram comigo em Ouro Preto pela ajuda e amizade, obrigado a todas por estarem sempre presentes.

A Silvana Mara pela carinhosa co-orientação, apoio e auxílio na realização do projeto.

Aos amigos do laboratório de Doença de Chagas, pelo auxílio, convivência agradável e bons momentos compartilhados, em especial a Prof. Arlete e Vívian pelos ensinamentos.

Aos voluntários do projeto, pela dedicação e forma carinhosa com que participaram da pesquisa.

Ao Prof. Roney Luiz de Carvalho Nicolato, pelo auxílio no LAPAC.

Á Prof. Ana Carolina Pinheiro Volp, pelo apoio, incentivo e por dividir experiências na realização do estágio docência.

Ao Prof. Fernando pelo auxílio e ensinamento na realização das análises do projeto.

Aos professores e funcionários da Escola de Nutrição/ICEB/NUPEB que, de alguma forma contribuíram para esse trabalho.

Resumo

A obesidade é um grave problema de saúde pública cuja prevalência vem crescendo acentuadamente nas últimas décadas, inclusive em países em desenvolvimento. Trata-se de um fenômeno de transição nutricional precursor de doenças crônico-degenerativas não transmissíveis. A obesidade como condição inflamatória basal tem aberto novos horizontes para a identificação de marcadores inflamatórios com utilização em diagnóstico ou prognóstico para as doenças crônico-degenerativas. Nesse sentido, o presente estudo objetiva a quantificação de marcadores inflamatórios plasmáticos (CCL2, CCL5, CXCL16, leptina, resistina e BMP-2) correlacionando-os com marcadores clínicos, bioquímicos (glicose de jejum, hemograma completo, colesterol total e frações, hormônios T3, T4 e TSH) e antropométricos (peso, altura, circunferências corporais, pregas cutâneas e porcentagem de gordura corporal) em adultos jovens (18 a 30 anos) com sobrepeso e obesidade. Nossos resultados demonstraram aumento dos parâmetros antropométricos em indivíduos com sobrepeso/obesidade, bem como dos níveis plasmáticos dos marcadores, exceto o BMP-2. Ainda, observou-se correlação da resistina, CCL2 e CCL5 com valores de índice de massa corporal e porcentagem de gordura corporal nos indivíduos avaliados. Dessa forma, o presente estudo indica um risco potencial para os indivíduos com sobrepeso pela similaridade nos níveis de marcadores inflamatórios associados às comorbidades associadas à obesidade. Sugere-se, ainda, que novas investigações sejam realizadas objetivando um estudo de amostragem populacional para confirmação das quimiocinas CCL5, CCL2, CXCL16 como indicadores de prognóstico clínico para comorbidades associadas à obesidade humana.

Palavras-chave: Obesidade, marcadores inflamatórios, quimiocinas, parâmetros antropométricos.

Abstract

Obesity is a serious and growing world healthy problem affecting developed and in developing countries. Considered a phenomenon of the nutritional transition, the obesity is a precursor of some non-transmitted chronic degenerative diseases. The new conception of obesity as a basal inflammatory condition opens a new window of possibilities to identify inflammatory biomarkers to be used in the diagnosis or prognosis of obesity-associated comorbidities. Following this conception, this present works aim the quantification and correlation of classic (Leptin and Resistin) and new soluble markers (CCL2, CCL5, CXCL16 and BMP-2) with clinical, biochemical (fasting glucose, hemogram, cholesterol, T3, T4 and TSH) and anthropometric (weight, height, body circumferences, skinfold thickness and percentage of body fat) parameters in young adults (18 to 30 years old) presenting obesity and overweight. Our data showed increasing in anthropometric parameters in those individuals with overweight and obesity as well as in the plasma levels of inflammatory markers except to BMP-2. There was also observed correlation among CCL2, CCL5 and values of body mass index and body fat percentage in the individuals from this study. In summary, this present work proposes the existence of a potential risk to individuals with overweight due the similarity of the circulating inflammatory mediators that is commonly associated with obesity comorbidities. In addition, more investigations should be proposed, in population scale, to reinforce and define the role of the chemokines CCL2, CCL5 and CXCL16 as prognostic indicators of human obesity comorbidities.

Palavras-chave: Obesity, , inflammatory biomarkers, chemokines, anthropometric parameters.

Lista de abreviatura

AMB - Área muscular do braço

BMP-2 - Proteínas morfogenéticas ósseas- 2

CB - Circunferência do braço

CC - circunferência da cintura

CMB - Circunferência muscular do braço

CQ - circunferência do quadril

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IL-17 A– Interleucina 17

IL-6 – Interleucina 6

IMC- Índice de massa corporal

PCR - Proteína C-reativa

PCT - Prega cutânea do tríceps

POF- Pesquisa de Orçamentos Familiares

RCQ - relação da cintura para o quadril

T3 - Tri-iodotironina

T4- Tiroxina

TNF-alfa – Fator de necrose tumoral – alfa

TSH - Hormônio tireotrófico

VEGF - *Vascular endothelial growth factor*

Lista de tabela

Tabela 1 – Riscos relativos para doenças crônicas associadas à obesidade segundo.....	2
Tabela 2 – Classificação do sobrepeso e da obesidade através do IMC e circunferência da cintura e do risco de doenças associados.....	5
Tabela 3 - Mediadores inflamatórios e suas principais funções.....	9 e 10
Tabela 4: Características gerais e antropométricas dos voluntários classificados pelo estado nutricional relacionado ao IMC.....	18
Tabela 5 – Avaliação bioquímica dos indivíduos.....	19
Tabela 6: Ausência de correlação entre CCL2, CCL5, CXCL16, resistina e leptina com parâmetros bioquímicos e antropométricos.....	34

Lista de figuras

Figura 1 - Concentração plasmática das quimiocinas CCL2, CCL5 e CXCL-16.....	21
Figura 2 – Concentração plasmática das adipocinas leptina, resistina e BMP-2.....	23
Figura 3 – Correlação da quimiocina CCL5.....	24 e 25
Figura 4 – Correlação da quimiocina CCL2.....	26 e 27
Figura 5 – Correlação da quimiocina CXCL16.....	28e 29
Figura 6 – Correlação da adipocina resistina.....	30 e 31
Figura 7 – Correlação da adipocina leptina.....	32 e 33

Sumário

<u>1– Introdução</u>	1
<u>2.1 – O tecido adiposo como um órgão secretor</u>	7
<u>2.2 – Mediadores inflamatórios</u>	9
<u>3. Objetivos</u>	11
<u>3.1 – Objetivo geral</u>	11
<u>3.2 – Objetivos específicos:</u>	11
<u>4- Material e métodos</u>	12
<u>4.1. População</u>	12
<u>4.2. Análise antropométrica e composição corporal</u>	13
<u>4.3. Processamento e análise dos exames bioquímicos</u>	14
<u>4.4- Processamento e análise do material para os ensaios imunoenzimáticos</u>	15
<u>4.5. Comitê de ética</u>	16
<u>4.6. Análise estatística</u>	16
<u>5.0- Resultados</u>	17
<u>5.1- Avaliação antropométrica</u>	17
<u>5.2 - Avaliações bioquímicas</u>	19
<u>5.3 - Avaliação dos mediadores inflamatórios</u>	20
<u>5.4 - Correlação entre mediadores inflamatórios e parâmetros antropométricos em adultos jovens eutróficos, com sobrepeso e obesidade.</u>	24
<u>6.0 - Discussão</u>	35
<u>7.0 – Conclusão</u>	42
<u>8.0 – Referência bibliográfica</u>	43
<u>9.0 – Anexo</u>	50

1– Introdução

1.1- Obesidade

A prevalência de sobrepeso e obesidade tem aumentado de forma preocupante nas duas últimas décadas em todo o mundo, atingindo pessoas de todas as idades, principalmente adolescentes e adultos (Terres, 2006). De fato, esta é uma doença universal de prevalência crescente, considerada um grave problema de saúde pública nos países desenvolvidos e um exponencial problema nos países em desenvolvimento (Lopes et al, 2006).

A obesidade é uma doença crônica não-degenerativa caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo em decorrência de um desequilíbrio entre a quantidade de energia ingerida e o gasto energético do organismo, por um longo período acarretando males à saúde (WHO, 2006).

O Brasil vem passando por um processo de transformação do seu panorama nutricional. Devido às mudanças econômicas, sociais e demográficas do país, ocorreram modificações no estilo de vida e alimentação dos brasileiros. A urbanização da população é apontada como um dos principais determinantes das alterações dos padrões de comportamento alimentar que, juntamente com a redução da atividade física, ocasionaram mudanças na qualidade de vida das populações (Batista, 2008).

Resultados da pesquisa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) justificam a importância de se trabalhar com indivíduos obesos. Este instituto publicou dados recentes da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF-2008-2009) revelando que na população de 20 anos ou mais de idade, foi diagnosticada uma prevalência de excesso de peso e uma elevada obesidade quando comparada aos outros anos da POF. Os dados indicam que 50,1% dos homens e 48% das mulheres apresentavam excesso de peso, ou seja, índice de massa corpórea (IMC) maior ou igual a 25 Kg/m². Em relação à prevalência de obesidade, IMC maior ou igual a 30 Kg/m², 12,4% dos homens e 16,9% das mulheres apresentaram-se com obesidade (POF - 2008, 2009).

Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de identificar os principais fatores que contribuem para o desenvolvimento da obesidade; a obesidade não é uma desordem singular e sim um grupo de condições com múltiplas causas (OPAS, 2006). Grande parte dos problemas que estão relacionados com a obesidade baseia-se na formação dos hábitos alimentares (o aumento da ingestão de lipídios saturados, açúcares, refrigerantes e alimentos refinados) e também na redução da atividade física e aumento da vida sedentária. O balanço energético sofre influência tanto de hábitos alimentares e de estilo de vida, como também dos fatores sociológicos e das alterações metabólicas e neuroendócrinas e componentes hereditários (Guimaraes et al, 2012).

A prevalência da obesidade atinge a todas as faixas etárias da população, de acordo com Sichieri e Souza, aproximadamente 20% das crianças com idade de 4 anos que apresentavam obesidade tornaram-se adultos obesos, e entre os adolescente obesos esse percentual foi de 80% (Shicieri e Souza, 2008). É possível verificar com esse perfil que a obesidade na infância e adolescência é fator de risco para o desenvolvimento de diversas comorbidades na fase adulta do indivíduo.

O portador de excesso de peso tem maiores chances de desenvolver doenças cardiovasculares e metabólicas, com maior prevalência de hipertensão arterial, dislipidemia, infarto agudo do miocárdio e diabetes tipo II, doenças ortopédicas e diversos tipos de câncer em cólon, mama, rins, vesícula biliar e endométrio (Pappas et. al, 2010). A tabela 1 apresenta dados de uma metanálise publicada com diversos estudos que evidenciam que a obesidade está associada a um maior risco de desenvolvimento de doenças.

Tabela 1 – Riscos relativos para doenças crônicas associadas à obesidade segundo Guh et al. 2009

	IMC		Circunferência da cintura	
	Homem	Mulher	Homem	Mulher
Diabetes tipo 2	6,7 (5,6-8,2)	12,4 (9,0-17,1)	5,1 (3,8-6,9)	11,1 (8,2-15,0)
Doença cardiovascular				
Hipertensão	1,8 (1,5-2,2)	2,4 (1,6-3,7)		1,9 (1,8-2,0)
Doença arterial coronariana	1,7 (1,5-2,0)	3,1(2,8-3,4)	1,8(1,4-2,2)	2,7(2,0-3,5)
Insuficiência cardíaca	1,8(1,2-2,6)	1,8(1,1-2,9)		
Câncer				
Colo retal	1,9 (1,6-2,4)	1,7(1,5-1,8)		
Renal	1,8(1,6-2,0)	1,8(1,1-2,9)		
Mama		1,1(1,0-1,2)		
Ovários		1,3(1,2-1,4)		
Outras				
Doença biliar	1,4(1,1-2,0)	2,3(1,2-4,6)	2,4(2,1-2,7)	
Asma	1,4(1,1-1,8)	1,8(1,4-2,3)		
Osteoartrite	4,0(2,8-6,4)	2,0(1,9-2,0)		

IMC: índice de massa corporal ≥ 30 kg/m²

Circunferência da cintura ≥ 88 cm, para mulheres e ≥ 102 cm para homens.

Segundo o estudo nacional americano NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*), o sobrepeso e a obesidade estão associados ao aumento significativo na mortalidade por desenvolvimento de diabetes e problemas renais (mais de 61.249 mortes/ano

no país), por doença cardiovascular (mais de 112.159 mortes/ano) e câncer (mais de 13.839 mortes/ano) (Huang, et al. 2009).

Com a análise de estudos prospectivos realizados em 2009, (PSC- *Prospective Studies Collaboration*), foi possível observar com maior precisão o risco de mortalidade associado a doenças crônicas. Em ambos os sexos a mortalidade foi menor para os indivíduos que apresentavam IMC entre 22,5 e 25 kg/m² (Sobrepeso), acima dessa faixa o risco associado ao IMC é aditivo. Aumento de 5 kg/m² no IMC está associado ao aumento de 30% na mortalidade, 40% de riscos cardiovasculares e até 120% na mortalidade por diabetes (Huang, et al. 2009).

Considera-se que a obesidade, além de promover uma redução da expectativa de vida do indivíduo, os danos à saúde gerados pelo indivíduo também leva a um aumento da utilização dos recursos de saúde com elevados custos econômicos. No Brasil, cerca de 1,5 bilhões de reais por ano são gastos no tratamento da obesidade, abrangendo internações hospitalares, consultas médicas e medicamentos. Desse valor, 600 milhões são provenientes do governo via Sistema Único de Saúde, representando 12% do orçamento gasto com todas as outras doenças (Nissen, 2012 e ABESO- 2012). Pelo menos 2,6 milhões de pessoas morrem a cada ano como resultado de doenças associadas ao excesso de peso (WHO, 2010).

1.2- Diagnóstico da obesidade

O índice de massa corporal (IMC) é uma medida comumente utilizada na classificação do estado nutricional do indivíduo. É calculado por meio da razão entre o peso (quilogramas) e o quadrado da altura (metros). Em 1995, um Comitê de Especialistas da Organização Mundial da Saúde modificou os pontos de corte do IMC para emagrecimento e, em 1998, para obesidade, preconizando sua utilização tanto para diagnóstico de desnutrição quanto de obesidade (WHO, 1995), sendo descritos a seguir: magreza grau III (grave): $IMC < 16,0$; magreza grau II (moderada): $16,0 \leq IMC \leq 16,99$; magreza grau I (leve): $17,0 \leq IMC \leq 18,49$; faixa normal: $18,5 \leq IMC \leq 24,99$; pré-obesidade (aumentado): $25,0 \leq IMC \leq 29,99$; obesidade grau I (moderado): $30,00 \leq IMC \leq 34,99$; obesidade grau II (grave): $35,0 \leq IMC \leq 39,99$; obesidade grau III (muito grave): $IMC \geq 40,00$ (Acunã et al. 2008).

O IMC apesar de ser considerado um bom indicador, não está totalmente correlacionado com a distribuição da gordura corporal, pois possui algumas limitações como a relação com a proporcionalidade do corpo, a relação com a estatura, particularidades entre pessoas com pernas curtas para a sua altura, que neste último caso apresentarão IMC aumentado, constituem exemplos dessas limitações. E também apresenta deficiência por não diferenciar a massa gorda da massa magra do indivíduo levando a um erro no diagnóstico do estado nutricional (Silveira

et al, 2010). O IMC também não é capaz de indicar a localização da gordura, necessitando uma complementação com medidas que certifiquem a correta mensuração do percentual de gordura total da avaliação antropométrica. Por outro lado, apesar de o IMC não indicar a composição corporal, a facilidade de sua mensuração e sua relação com a morbi-mortalidade parecem ser motivos suficientes para sua utilização como indicador do estado nutricional em estudos epidemiológicos em associação ou não com outras medidas antropométricas (Anjos et al, 2009).

O tecido adiposo tem grande variabilidade em sua distribuição, isso indica que diferentes tipos e localização da gordura têm ações distintas. Com isso tem sido proposto que o excesso de gordura localizado na região abdominal (andróide) pode levar a maiores complicações metabólicas quando comparado a gordura localizada na região dos quadris (ginóide) (Heyward et al, 2005).

As circunferências são afetadas pela massa gorda, massa muscular e tamanho ósseo, sendo um método simples que permite medir uma grande variedade de circunferências corporais. As principais circunferências utilizadas na prática clínica são: circunferência da cintura (CC); circunferência do quadril (CQ) e relação da cintura para o quadril (RCQ).

A CC e CQ são medidas usadas como indicador da adiposidade abdominal; a RCQ está fortemente associada à gordura visceral, sendo um índice aceitável de gordura intra-abdominal é a medida de adiposidade mais frequentemente utilizada, permitindo diferenciar a obesidade ginecóide e andróide. Uma RCQ de 1,0 ou mais para homens e de 0,8 ou mais para mulheres é indicativo de obesidade andróide e risco aumentado de doenças relacionadas com a obesidade (Heyward et al, 2005).

Assim pode ser proposto a classificação da obesidade associada dos valores de IMC, CC e risco de doenças associadas (Tabela 2).

Tabela 2 – Classificação do sobrepeso e da obesidade através do IMC e circunferência da cintura e do risco de doenças associado segundo Heyward et al, 2005.

Índice de massa corporal (kg/m²)	Risco de doença* para peso normal e circunferência da cintura
--	--

		Homens ≤ 102 cm	Homens > 102 cm
		Mulheres ≤ 88 cm	Mulheres > 88 cm
Baixo peso	< 18		
Peso normal	18,5-24,9		
Sobrepeso	25,0-29,9	aumenta	alta
Obesidade			
grau 1	30,0-34,9	alta	muito alta
grau 2	35,0-39,9	muito alta	muito alta
grau 3	$\geq 40,0$	extremamente	extremamente
(Obesidade extrema)		alta	alta

*Risco para diabetes tipo 2, hipertensão e doença cardiovascular

A distribuição mais detalhada do excesso de tecido adiposo pode influenciar a relação entre obesidade e doença cardiovascular, por exemplo; sendo que o excesso de tecido adiposo abdominal, localizado principalmente na região visceral juntamente com o excesso de triglicerídeos no fígado, no músculo esquelético e no tecido cardíaco estão associados com insuficiência hepática, resistência insulínica e debilidade na função ventricular (Pappas et. al, 2010; Manchine, 2006).

A Circunferência do braço (CB) é muito utilizada, pois a sua combinação com a medida da prega cutânea do tríceps (PCT) permite, através da aplicação de fórmulas, calcular a circunferência muscular do braço (CMB) e a área muscular do braço (AMB), área de músculo sem osso, permitindo observar a massa muscular corporal total do indivíduo (Ddehoog, 1998).

Sendo todas estas mediadas de fácil mensuração e isoladamente, podem prever riscos de desenvolvimento de doenças metabólicas relacionadas à obesidade, torna-se necessária sua averiguação para complementação da avaliação do estado nutricional do indivíduo avaliado.

A gordura subcutânea corresponde a 50% da gordura armazenada do corpo, e com relação à composição corporal, o percentual de gordura é um dos componentes mais estudados. As pregas cutâneas são muito utilizadas na prática clínica tendo como vantagem fornecer uma maneira simples e não-invasiva de estimar a gordura corporal e caracterizar a distribuição da gordura subcutânea (Acuña et al, 2008).

Através da somatória das pregas (tríceps, bíceps, subescapular, supra-ilíaca), obtém-se a porcentagem de gordura corporal com o auxílio de uma equação de regressão linear. A medida isolada da prega cutânea do tríceps proporciona uma estimativa das reservas gordurosas do tecido subcutâneo, a qual se relaciona com o volume de gordura do organismo (Castro et al, 2008).

A impedância bioelétrica é um método rápido, não-invasivo, utilizado para avaliar a composição corporal. Este método utiliza a passagem de uma corrente elétrica de baixo nível através do corpo do paciente e a impedância oposição ao fluxo da corrente, é medida (Heyward, 2005). Além de avaliar a densidade da massa livre de gordura e a densidade da massa gorda, a impedância bioelétrica mede a porcentagem corporal de água e a massa óssea corporal.

A escolha do método é dependente de uma série de fatores como, por exemplo, os recursos disponíveis, tempo para a coleta de dados e tipo de estudo a ser realizado.

O tecido adiposo subcutâneo é responsável pela liberação da maioria das AGLs encontrados na circulação quando comparado à gordura visceral. No entanto é também responsável pela liberação de uma grande variedade de adipocinas e citocinas inflamatórias, que por sua vez influenciam no desenvolvimento da resistência a insulina no indivíduo (Lima e Curi, 2008).

Atualmente, na prática clínica tem-se utilizado inúmeros marcadores, como exames antropométricos, clínicos, marcadores bioquímico/imunológicos (hormônios/citocinas) para avaliar o quadro de obesidade. Dessa forma, pesquisas vêm sendo realizadas com o intuito de entender o conjunto dos fatores de risco em indivíduos, associado à avaliação de marcadores com o propósito de estabelecer alvos potenciais de terapia na prevenção ou no tratamento de doenças e complicações associadas ao quadro de obesidade (Volp et al., 2008).

2 – Tecido adiposo e inflamação

2.1 – O tecido adiposo como um órgão secretor

O tecido adiposo é constituído por adipócitos (50%), tecido nervoso, fibras de colágeno, nódulos linfáticos, pré-adipócitos (células precursoras dos adipócitos) e cerca de 20% de neutrófilos, linfócitos e macrófagos infiltrados. Anatomicamente, o tecido adiposo está distribuído principalmente entre os compartimentos subcutâneo e visceral (Caspar-Bauguil et al. 2009).

O tecido adiposo humano é subdividido em tecido adiposo branco (TAB) e marrom (TAM). O TAB, localizado perifericamente nas regiões subcutânea e visceral, armazena energia

na forma de triglicerídeos e participa da regulação do balanço energético mediante processos de lipogênese e lipólise. Histologicamente, ele é composto por adipócitos, células do sistema imune, tecido conjuntivo, nervoso e vascular (Leite et al. 2009). O TAM, localizado no sistema nervoso central, tem um papel muito relacionado com funções de termorregulação, é mais vascularizado, possui maior número de mitocôndrias e diminui com a idade sendo mais abundante nos recém-nascidos (Virtanen et al. 2009).

O tecido adiposo atualmente é um dos principais focos das pesquisas em obesidade, a partir de uma revolução no entendimento da função biológica desse tecido desde a última década. Além de ser a principal reserva de energia, armazenando triacilglicerol em períodos de excesso de energia, o tecido adiposo secreta substâncias que participam de respostas inflamatórias e imunológicas, de eventos vasculares, da regulação do apetite, do controle das funções reprodutivas e do controle da secreção e sensibilidade à insulina, por exemplo (Kershaw e Flier, 2004; Prado et al. 2009).

Neste sentido, o tecido adiposo passou a ser considerado um verdadeiro órgão endócrino, pois secreta uma variedade de proteínas sintetizadas e liberadas pelos adipócitos, denominadas adipocinas. As adipocinas influenciam uma variedade de processos fisiológicos, entre eles: e balanço energético, imunidade, sensibilidade à insulina, angiogênese, inflamação e resposta de fase aguda, pressão sanguínea e metabolismo de lipídeos (Fruhbeck et al, 2011). Dentre as adipocinas destacam-se a leptina, grelina, adiponectina e resistina como elementos essenciais no controle do metabolismo energético, sendo seu desbalanço um forte indicador pró-inflamatório (Gnacińska et al, 2009).

As adipocinas são também produzidas por outros tecidos, sendo difícil determinar a contribuição do tecido adiposo para os seus níveis circulantes; porém pode-se afirmar que muitas dessas adipocinas são ligadas à imunidade e inflamação, uma vez que foram estabelecidos paralelos (relações) entre os adipócitos e as células imunológicas (Fantuzzi et al, 2005).

Recentemente, a evidência de que o quadro de obesidade interfira diretamente na resposta inflamatória e conseqüentemente nos quadros de resistência à insulina e doenças cardiovasculares têm crescido exponencialmente (Dulcan et al, 2006). Em indivíduos obesos, o desenvolvimento gradual dos eventos inflamatórios é determinado pelo aumento plasmático de alguns mediadores inflamatórios como proteína C-reativa (PCR), citocinas (TNF-alfa, IL-6, IL-8, CCL2), bem como das proteínas leptinas (Bouloumié et al, 2005). Assim, pesquisas relacionando o tecido adiposo, recrutamento de células inflamatórias e sua ativação tornam-se importantes para o entendimento da patologia da obesidade associada às suas co-morbidades (Trayhurn et al, 2008).

2.2 – Mediadores inflamatórios

Alguns marcadores inflamatórios tem recebido grande destaque em estudos, relacionando a importância de sua atuação na obesidade e seu papel importante na homeostasia energética, sensibilidade à insulina, resposta imunológica e doença vascular. Corroborando a importância das adipocinas na mediação das respostas imunes de indivíduos obesos, alguns estudos mostraram que baixas concentrações da adiponectina estão associadas à ocorrência de diversos tipos de câncer e altas concentrações da mesma relaciona-se à inibição do crescimento de tumores (Fruhbeck, 2011; Brakenhielm, 2004).

Diversas adipocinas são abundantemente sintetizadas pelo tecido adiposo, como exemplo adiponectina, leptina, o fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 (IL-1), CCL2, dentre outras (Borges, 2007). Mesmo diante de alguns marcadores inflamatórios previamente descritos na literatura, torna-se importante identificar novos marcadores com potencial capacidade de utilização em diagnóstico, prognóstico e acompanhamento da obesidade e de outras doenças metabólicas. Nesse sentido, a proposta do presente estudo é avaliar marcadores inflamatórios já descritos na literatura por seu envolvimento na obesidade e outros com indícios biológicos para associação com a obesidade (Tabela 3) em indivíduos adultos jovens.

Tabela 3 - Mediadores inflamatórios e suas principais funções

Mediadores inflamatórios	Células produtoras	Função/Efeito	Referências
Leptina	Adipócitos	Atua como um fator de sinalização entre o tecido adiposo e o sistema nervoso central, atuando sobre o hipotálamo, promovendo a regulação da ingestão alimentar, do gasto energético e, conseqüentemente, da massa corporal. Influência na sensibilização insulínica. A concentração plasmática de leptina está proporcionalmente relacionada ao tamanho da massa de tecido adiposo presente no corpo, sendo encontrada em níveis elevados nos indivíduos obesos. Estimula ou suprime a produção das citocinas inflamatórias e regulatória, promovendo o aumento da produção de citocinas, a adesão e a fagocitose em macrófagos, além de estimular a proliferação das células T.	Muzumdar, 2003 Gomes, 2010 Ikeoka, 2010 Sweeney, 2010 Martin, 2008
Resistina	Monócitos Adipócitos	Influencia no desenvolvimento à resistência insulínica. Apresenta correlação positiva com marcadores inflamatórios (IL-6, PCR, ICAM-1) em indivíduos com sinais inflamatórios severos, sendo preditora da aterosclerose em humano.	Gomez-Ambrosi, 2005 Funahashi, 2004
BMP-2 Proteínas morfogenéticas ósseas-2	Osteoblastos Odontoblastos	Aplicação no tratamento de fraturas não cicatrizadas, reparação de defeitos ósseos, periodontites e malformações congênitas. Possui grande capacidade osteoindutora e induz o aumento das células mesenquimais pluripotenciais (células-tronco), com capacidade para se diferenciarem em células produtoras de tecido ósseo ou vascular.	Wozney, 2005 Ripamonti, 2001

Citocina	Células produtoras	Função/Efeito	Referências
CCL5/Rantes <i>Regulated on Activation Normal T-Cell Expressed and Secreted</i>		Atua estimulando a migração de monócitos, linfócitos T, eosinófilos, basófilos para o sítio inflamatório.	Guerreiro, 2011 Camargo, 2011
CXCL-16	Proteína transmembranar	Sua expressão tem sido associada a diversas doenças crônico-inflamatórias, incluindo artrite reumatoide, doenças pulmonares, aterosclerose, doença coronariana e lesão hepática. Expressa em células Th1, em linfócitos e infiltrados tumorais.	Sheikine, 2008 Darash-Yahana, 2009 Ruth, 2006
CCL2/ MCP-1 <i>Monocyte chemoattractant protein</i>	Macrófagos Adipócitos Células do estroma Leucócitos	Participa do recrutamento de monócitos. É considerada um marcador de inflamação em diversas doenças, principalmente nas doenças cardiovasculares e também é expressa nas fases iniciais da aterosclerose. Suas concentrações encontram-se elevadas no soro de indivíduos obesos e em algumas doenças inflamatórias (Ex: Doenças de Chagas).	Dwyer, 2007 Talvani, 2004 Murdolo, 2007

3. Objetivos

3.1 – Objetivo geral

Quantificar a produção de marcadores inflamatórios plasmáticos correlacionando-os com marcadores clínicos, bioquímicos e antropométricos em adultos jovens apresentando sobrepeso e obesidade.

3.2 – Objetivos específicos:

(I) Avaliação da composição corporal de adultos jovens apresentando sobrepeso e obesidade pela avaliação antropométrica (peso, altura, circunferências e pregas cutâneas, % de gordura corporal, massa óssea e % de água).

(II) Correlacionar aspectos clínicos da composição corporal dos pacientes com os seguintes marcadores inflamatórios plasmáticos (CCL2, CCL5, CXCL16, leptina, resistina, BMP-2);

(III) Correlacionar marcadores bioquímicos (hemograma completo, glicose de jejum, colesterol e frações, T3, T4 e TSH) com os marcadores clínicos e inflamatórios,

4- Material e métodos

4.1. População

Os participantes desta pesquisa foram agrupados por idade (adulto jovem: de 18 a 30 anos) e condição clínica (obesidade e sobrepeso). A população avaliada foi composta por 47 voluntários, todos alunos da Universidade Federal de Ouro Preto.

Foram considerados critérios de inclusão: (I) apresentar idades entre 18 anos e 30 anos; (II) apresentar sobrepeso (IMC acima de 25 para adultos) ou condição de eutrofia, (III) aceitar participar da pesquisa de forma voluntária e, para isso, assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Foram considerados critérios de exclusão: (I) possuir idade fora da faixa estabelecida para a pesquisa; (II) recusar-se a participar do estudo, independente da justificativa, após ter recebido todas as informações contidas no termo de consentimento deste projeto de pesquisa; (III) impossibilidade ou ausência de disponibilidade para a realização dos exames; (IV) pessoas que fazem uso constante de medicamentos antiinflamatórios, antidepressivo, sibutramina e inibidores de apetite ; (V) episódio prévio sugestivo de doença reumática aguda; (VI) apresentar disfunção tireoidiana, manifesta por níveis anormais de hormônio estimulante da tireóide e da tiroxina livre; (VII) apresentar insuficiência renal, definida pelo aumento dos níveis de creatinina e uréia; (VIII) apresentar doença pulmonar obstrutiva crônica, conforme presença de história, exame físico, ECG e alterações radiológicas sugestivas; (IX) apresentar distúrbios hidroeletrólíticos (níveis séricos anormais de potássio e sódio) e/ou anemia significativa, definida como hemoglobina menor que 10g/dl; (X) apresentar qualquer outra doença sistêmica significativa, crônica ou aguda.

Os participantes voluntários dessa pesquisa foram agrupados, sem que tivessem conhecimento dessa classificação, em: (I) adulto eutrófico, (II) adultos com sobrepeso (IMC acima de 25 Kg/m²) (III) adulto obeso (IMC acima de 30 Kg/m²).

4.2. Análise antropométrica e composição corporal

A avaliação antropométrica foi realizada por uma nutricionista, em uma sala privativa.

(I) Altura: Os indivíduos foram medidos em pé, descalços, com os pés unidos, de costas para o marcador, em posição ereta, olhando para frente. A medida foi realizada através do estadiômetro transportável Welmy® com escala em centímetros e a precisão de 1 milímetro.

(II) Peso: Os indivíduos foram pesados em balança portátil calibrada TANITA®, com monitor para composição corporal por bioimpedância bipolar, sendo a mesma utilizada durante toda a pesquisa e em todos os pacientes. Esse equipamento possui capacidade máxima de 136 kg e precisão de 0,5 kg. Os indivíduos foram pesados em pé, descalços e posicionados corretamente nos eletrodos, sem adornos metálicos e com roupas leves.

(III) Índice de Massa Corporal: O IMC foi obtido dividindo-se o peso pela altura em metros (m²). $IMC: \text{Peso (kg)} / \text{Altura (m)}^2$

(IV) Circunferência do braço (CB): Foi solicitado aos indivíduos que utilizassem roupas leves e, de pés juntos e braços estendidos lateralmente, foi realizada medida em plano horizontal.

(V) Circunferência da cintura: A medida foi realizada com o indivíduo em pé, com os pés juntos, os braços estendidos lateralmente e o abdome relaxado. A medida foi tomada no ponto médio entre a última costela e a supra ilíaca, com a fita inelástica em plano horizontal.

(VI) Circunferência do quadril: A medida foi realizada com indivíduo em pé, pés juntos, braços levantados para os lados; A fita antropométrica foi colocada estendida em plano horizontal no quadril sobre a pele sem comprimir as partes moles.

(VII) Relação da cintura para o quadril (RCQ): O cálculo foi realizado dividindo a medida da circunferência da cintura (cm) pela do quadril (cm). $RCQ: CC/CQ$

(VIII) Circunferência abdominal: A medida foi realizada com indivíduo em pé, pés juntos, braços levantados para os lados. A fita antropométrica foi colocada estendida em plano horizontal na região do umbigo, sobre a pele sem comprimir as partes moles

(IX) Pregas cutâneas: As pregas cutâneas foram medidas com o adipômetro no com braço solto e relaxado e mantendo a pressão constante. A medida da prega cutânea do tríceps e bíceps foi realizada no braço não dominante; a prega cutânea bicipital foi obtida na parte média do braço; a prega cutânea subescapular foi medida 1 cm abaixo do ângulo inferior da escápula e a prega cutânea supra-ilíaca foi medida na linha axilar média, com o tronco estendido, 1 cm acima da crista ilíaca anterior superior.

(X) Porcentagem de gordura corporal: O percentual de gordura corporal foi mesurado pelo aparelho de impedância bioelétrica a balança portátil calibrada TANITA®.

4.3. Processamento e análise dos exames bioquímicos

As amostras de sangue venoso foram obtidas com o indivíduo em jejum de 12 a 14 horas e sob orientação para evitar ingestão de álcool nas 72 horas que antecederam a coleta, assim como evitar a atividade física extenuante no dia anterior.

A coleta foi realizada por um profissional farmacêutico e as amostras foram coletadas em tubos contendo heparina e tubos sem anticoagulante, conforme a indicação do método. Após a coleta estas foram acondicionadas em gelo e transportadas imediatamente para Laboratório Piloto de Análises Clínicas - Escola de Farmácia- Universidade Federal de Ouro Preto (LAPAC).

Foram avaliados no soro o perfil lipídico (colesterol total, triglicérides, HDL-c e LDL-c) e glicose, utilizando kits da marca Bioclin®. A determinação do colesterol total (CT), HDL-c e triglicérides (TG) foi realizada através da metodologia enzimática colorimétrica. A dosagem triglicérides foi realizada a partir de uma série de reações enzimáticas de hidrólise e oxidação, para a formação de peróxido de hidrogênio que, sob a influência catalítica da peroxidase, gera o composto quinoneimina, um indicador colorimétrico medido fotometricamente, cuja cor é proporcional a concentração do componente lipídico de interesse.

Na dosagem de HDL-c foi realizada utilizando o método homogêneo direto, em que o colesterol HDL transforma-se em colesteno e peróxido de hidrogênio por ação enzimática, na presença de surfactantes específicos. O peróxido de hidrogênio formado reage com um cromógeno, sob ação catalítica da peroxidase, gerando o corante quinona, cuja absorvância é diretamente proporcional à concentração do HDL-c na amostra.

O colesterol LDL foi quantificado usando-se a equação de Friedewald, descrita a seguir:
 $LDLC = CT - (VLDLC + HDLC)$, sendo que $VLDLC = TG/5$.

O método empregado para determinação da glicose foi o método cinético, o qual é baseado na reação de oxidação da glicose e posteriormente na reação de acoplamento de um dos produtos formados, levando à formação de um composto corado (antipirilquinonimina), cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose na amostra.

4.4- Processamento e análise do material para os ensaios imunoenzimáticos

Os ensaios imunoenzimáticos para os mediadores inflamatórios (CCL2, CCL5, CXCL16, leptina, resistina e BMP-2) foram realizados utilizando-se o plasma previamente armazenado no freezer -80° C. Utilizando placas de 96 poços, foram adicionados 100 ul de anticorpo monoclonal contra a proteína a ser dosada, diluídos em PBS contendo 0.1% de albumina de soro bovino - BSA (SIGMA). Após incubação por 12 horas à temperatura ambiente, os anticorpos não adsorvidos foram descartados e as placas bloqueadas com 300 ul/poço de uma solução contendo PBS-BSA 1%, durante 1 hora a 37° C. As amostras de plasma/ou sobrenadante, previamente padronizadas por nosso grupo foram aplicadas em um volume de 100ul para cada poço. Paralelamente, diluiu-se a proteína investigada em várias concentrações para o estabelecimento da curva padrão e, a seguir, incubou-se a placa por 12 horas à temperatura ambiente. Posteriormente os anticorpos secundários foram diluídos em PBS-BSA 0.1% e incubados por 2 horas à temperatura ambiente. Finalmente, 100 ul de estreptoavidina ligada à peroxidase na diluição de 1:4000 em PBS-BSA 0.1% foi adicionados à placa e a mesma mantida sob agitação por 30 minutos. O cromógeno utilizado para a revelação foi o OPD (θ -phenylenediamine -SIGMA) na diluição de 4 mg para 10 ml de tampão citrato. No momento da aplicação de 100ul desta solução nos poços, foi adicionado 2ul/placa de H₂O₂ 30 volumes como catalisador da reação. Após vinte minutos de incubação em ausência de luz, a reação sofreu bloqueio ao adicionar 50 ul de H₂SO₄ 3M por poço. A leitura da intensidade de marcação foi realizada em leitor de ELISA utilizando-se o comprimento de onda de 490 nM. Para este ensaio foram utilizados kits (Peprotech, da cidade de São Paulo).

4.5. Comitê de ética

O projeto em questão foi aprovado pelo Comitê de ética da Universidade Federal de Ouro Preto, parecer CAAE:07639512.0.0000.5150. (em ANEXO). A pesquisa consiste no seguimento do projeto realizado pela Doutoranda Silvana Mara, do Laboratório de Doença de Chagas, aprovado no mesmo parecer do comitê de ética.

4.6. Análise estatística

Toda abordagem técnica estatística será submetida à consultoria do Departamento Estatística da Universidade Federal de Ouro Preto, com a colaboração com o Prof. Dr. Fernando Luiz Pereira Oliveira.

Os resultados são apresentados, para cada grupo avaliado, por técnicas de estatística descritiva como mediana e intervalo interquartil. Foi realizado um teste de *Shapiro Wilk* para todas as variáveis estudadas para verificar o tipo de distribuição das variáveis.

Após avaliar uma distribuição assimétrica, dos grupos separados de acordo com a composição corporal, foi realizado o teste de análise de variância *one-way* (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de *Bonferroni*.

Posteriormente foi realizado o teste de correlação de *Pearson e Spearman* para verificar associação entre as variáveis dependentes (marcadores inflamatórios) e as variáveis antropométricas e bioquímicas. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%. Todas as análises foram feitas através dos programas *GraphPad Prism 5* e e do *software* estatístico R.

5.0- Resultados

5.1- Avaliações antropométricas

A amostra total de voluntários que participaram do projeto foi de 48 indivíduos, sendo 68,75% do sexo feminino e 31,25% do sexo masculino, com a média de idade de $24,04 \pm 3,5$. A Tabela 4 apresenta os dados de medidas antropométricas e composição corporal dos voluntários divididos de acordo com o estado nutricional pelo IMC, sendo 23 indivíduos classificados como eutróficos ($18,5 \text{ Kg/m}^2$ a $24,99 \text{ Kg/m}^2$), 18 apresentando sobrepeso (25 Kg/m^2 a $29,9 \text{ Kg/m}^2$) e 7 com obesidade ($30,0 \text{ Kg/m}^2$).

Com exceção da RCQ, todas as medidas antropométricas e composição corporal foram significativamente maiores ($p < 0,05$) no grupo de sobrepeso e obesidade quando comparado ao grupo de indivíduos com eutrófia. Porém não foi apresentada diferença quando comparado os grupos de sobrepeso e obesidade.

Características gerais e antropométricas dos voluntários classificados pelo estado nutricional relacionado ao IMC

	Eutrófico (E)		Sobrepeso (S)		Obesidade (O)		P
	(n:23)		(n:18)		(n:7)		
	Mediana	IQ	Mediana	IQ	Mediana	IQ	
Peso (Kg)	60,00	52,80-67,20	72,70	66,10-83,35	92,80	78,30-105,2	< 0.0001*
IMC (Kg/m ²)	21,55	19,47-22,90	26,00	25,52-27,40	33,68	31,16-34,31	< 0.0001*
CB (mm)	26,50	23,50-29,00	29,75	28,13-33,38	33,00	30,50-36,00	< 0,0008*
PCT(mm)	14,20	8,00-19,02	20,43	14,63-23,03	23,60	21,30-31,40	< 0,0004*
PCB(mm)	7,16	3,50-12,00	12,78	10,69-15,73	23,10	20,30-24,50	< 0,0004*
PCSE(mm)	18,25	13,50-22,50	28,35	23,00-35,05	45,80	32,15-51,00	< 0.0001*
PCSI(mm)	11,75	8,20-18,35	22,20	20,07-24,85	32,60	29,70-37,20	< 0.0001*
CA (cm)	80,00	77,60-88,00	91,00	86,73-97,00	111,5	93,00-114,2	< 0.0001*
CQ (cm)	98,00	93,00-102,0	106,0	102,9-109,9	121,0	117,0-127,0	< 0.0001*
CC (cm)	76,50	70,80-82,00	85,75	79,90-91,13	107,5	95,00-109,7	< 0.0001*
RCQ (cm)	0,78	0,73-0,85	0,80	0,78-0,85	0,88	0,78-0,94	0,0810
% gordura corporal	24,00	18,00-29,00	36,00	33,00-39,25	45,90	44,08-58,25	< 0.0001*

IQ: Intervalo interquartil (Q1-Q3) - IMC: índice de massa corporal; CB: circunferência do braço; PCT: prega cutânea tripectal; PCB: prega cutânea bicípital; PCSE: prega cutânea subescapular; PCSI: prega cutânea supra ilíaca; CA: circunferência abdominal; CQ: circunferência do quadril; CC: circunferência da cintura; RCQ: relação cintura quadril. Para a diferença entre os grupos foi realizado o teste One-way para análise de variâncias e teste de Bonferroni's de comparação múltiplas, $p < 0,05$. * A diferença encontrada quando comparado os grupos eutrófico e obesidade.

5.2 - Avaliações bioquímicas

As avaliações bioquímicas realizadas nas amostras de sangue dos voluntários encontram-se descritas na tabela 5. A tabela contém os valores de referência para cada uma das determinações conforme disponibilizado pelo seu respectivo *kit* comercial que é utilizado pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas - Escola de Farmácia- Universidade Federal de Ouro Preto (LAPAC).

Tabela 5 – Avaliação bioquímica dos indivíduos

	Eutrófico (n:23)		Sobrepeso (n:18)		Obesidade (n:7)		P	Referências
	Mediana	IQ	Mediana	IQ	Mediana	IQ		
Glicose (mg/dl)	87,00	80,00-95,00	89,00	86,00-93,00	87,00	85,00-91,00	0,26	70-100
Colesterol (mg/dl)	204,0	181,0-226,0	209,0	181,0-238,0	224,0	180,0-265,0	0,54	< 200
HDL (mg/dl)	67,58	50,59-76,98	58,31	52,21-68,31	56,69	48,53-58,70	0,29	> 60
LDL (mg/dl)	121,2	99,70-151,5	132,3	117,8-148,4	141,5	118,4-182,6	0,39	< 130
Triglicérides (mg/dl)	57,00	42,00-97,00	85,00	55,00-105,0	97,00	72,00-117,0	0,021*	< 150
VLDL (mg/dl)	11,49	8,34-19,32	16,97	10,97-21,02	19,40	14,50-23,36	0,025*	< 30
TSH (mU/m)	2,05	1,40-4,00	2,19	1,73-2,54	2,52	2,04-2,95	0,95	0,4 a 4,0
T3(mcg/dl)	1,20	1,12-1,48	1,34	1,22-1,51	1,44	1,00-1,48	0,3940	1,0 a 3,0
T4 (mcg/dl)	11,43	10,12-12,90	11,10	9,90-12,60	11,84	9,04-14,66	0,77	9,0 a 17,0

HDL (*high density lipoprotein*): lipoproteína de alta densidade; LDL (*low density lipoprotein*): lipoproteína de baixa densidade; VLDL (*very low density lipoprotein*): lipoproteína de muito baixa densidade; TSH: hormônio tireoestimulante; T3: triiodotironina; T4: tiroxina.

Para a diferença entre os grupos foi realizado o teste One-way para análise de variâncias e teste de Bonferroni's de comparação múltiplas, $p < 0,05$.

No presente estudo as avaliações bioquímicas de triglicérides e VLDL do grupo de indivíduos obesos apresentaram valores significativamente maiores quando comparado ao grupo estrófico. Em relação às outras dosagens bioquímicas não foi encontrado diferença entre os grupos.

5.3 - Avaliações dos mediadores inflamatórios

Os resultados da avaliação dos mediadores inflamatórios no soro dos voluntários da pesquisa serão apresentados agrupados em (i) quimiocinas (CCL2, CCL5 e CXCL-16) (figura 1) e (ii) adipocinas (leptina, resistina e BMP-2) (figura 2).

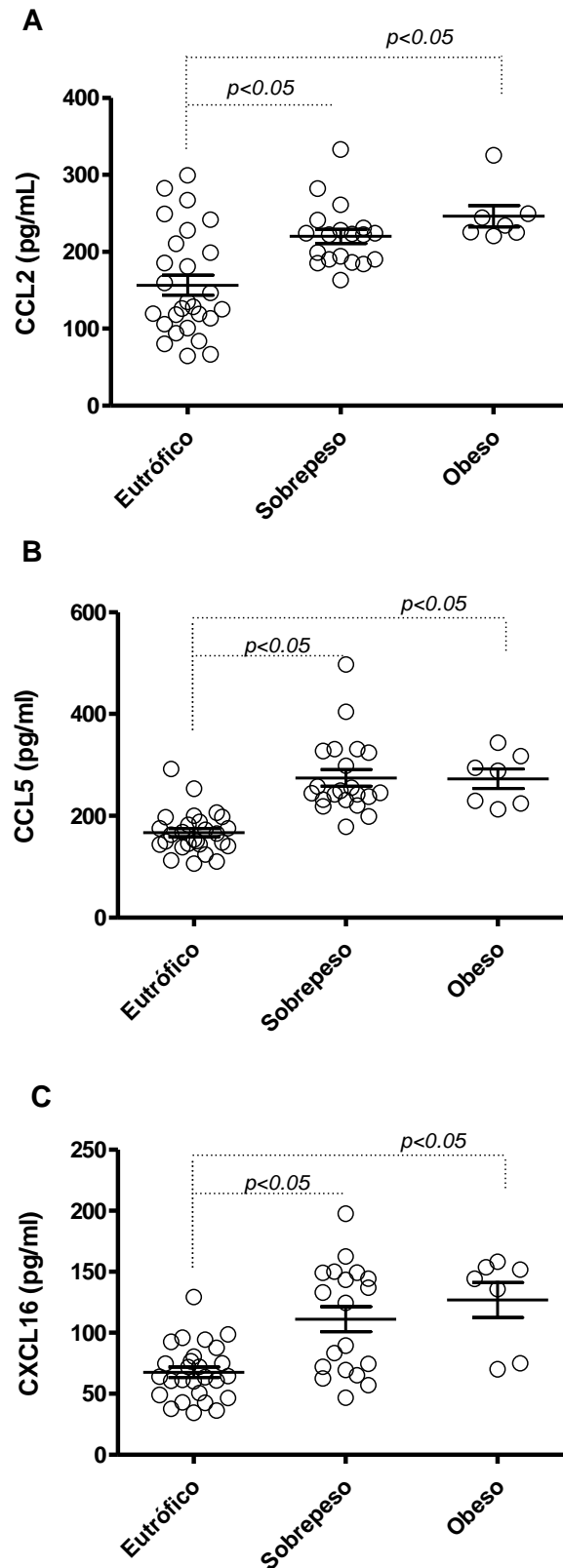


Figura 1 – Concentração plasmática das quimiocinas CCL2, CCL5 e CXCL-16. O plasma dos indivíduos voluntários foi submetido ao ensaio imunoenzimático (ELISA) e as quimiocinas CCL2 (A), CCL5 (B) e CXCL16 (C) avaliadas e apresentadas como média +/- SEM., $P < 0.005$ = existência de diferença significativa.

De acordo com os resultados obtidos, a CCL2 (Figura 1A) o grupo eutrófico apresentou valores menores quando comparado ao grupo com sobrepeso e obesidade ($p < 0,0001$). Em relação à concentração plasmática de CCL5 (Figura 1B) foi possível observar diferença apenas entre o grupo eutrófico quando comparado aos indivíduos com sobrepeso e obesidade ($p < 0,031$). Na dosagem da quimiocina CXCL16 (Figura 1C) foram observadas concentrações menores nos indivíduos eutróficos e apresentaram diferença significativa quando comparados aos grupos com sobrepeso e obesidade ($p < 0.0001$).

A figura 2 apresenta os resultados das concentrações das adipocinas dosadas nos grupos de indivíduos eutróficos, com sobrepeso e obesos.

Na avaliação dos níveis de leptina (Figura 2A) foi observado concentrações maiores da proteína em indivíduos obesos quando comparado aos indivíduos eutróficos ($p < 0,024$), Perfil inverso foi observado em relação às dosagens de resistina, (Figura 2B) onde os indivíduos eutróficos apresentaram níveis plasmáticos menores quando comparados aos grupos com sobrepeso e obesidade ($p < 0.0001$). Já para os valores das concentrações de BMP-2 não foi encontrado diferença significativa entre os grupos (Figura 2C).

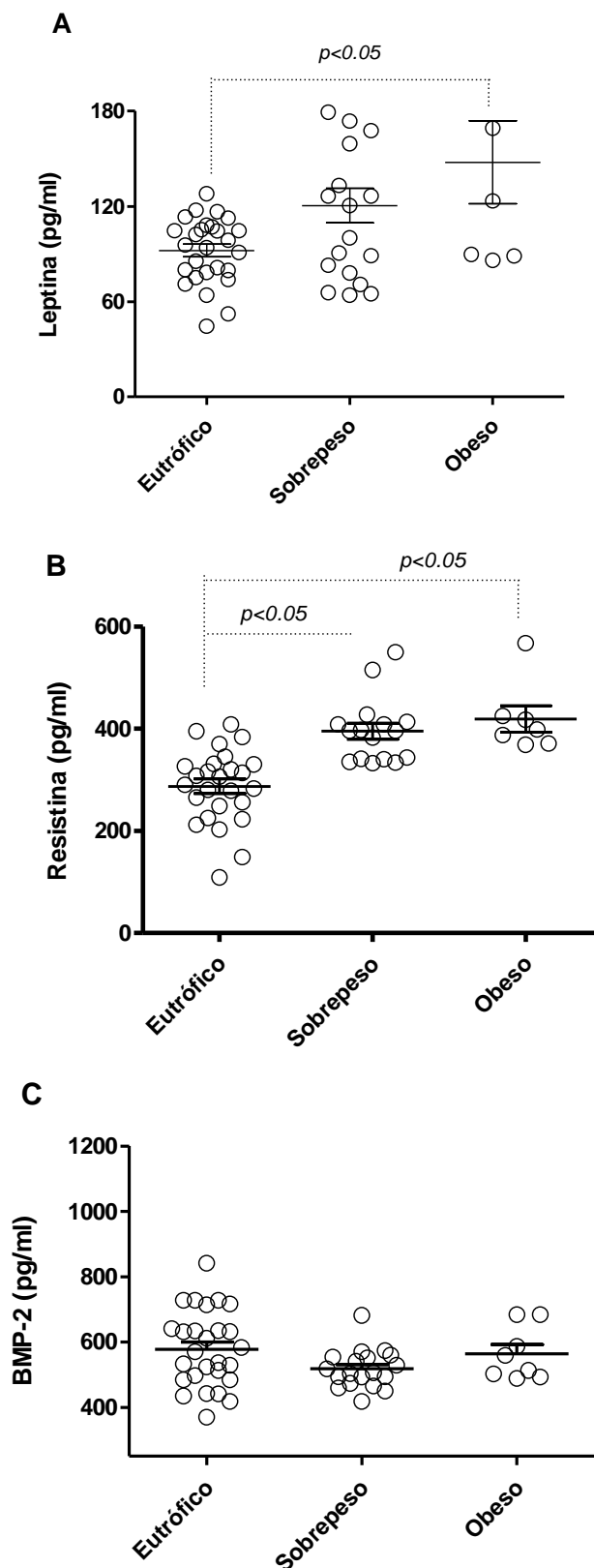


Figura 2 – Concentração plasmática das adipocinas leptina, resistina e BMP-2. O plasma dos indivíduos voluntários foi submetido ao ensaio imunoenzimático (ELISA) e as quimiocinas leptina (A), resistina (B) e BMP-2 (C) avaliadas e apresentadas como média +/- SEM., $P < 0.005$ = existência de diferença significativa.

5.4 - Correlação entre mediadores inflamatórios e parâmetros antropométricos em adultos jovens eutróficos, com sobrepeso e obesidade.

As análises de correlação foram realizadas com os mediadores inflamatórios que apresentaram diferença entre os grupos estudados.

Com base na importância da quimiocina CCL5 para o recrutamento celular em diferentes sítios do corpo humano, estabeleceu-se a correlação entre essa quimiocina e parâmetros antropométricos de maior relevância nesse estudo. A saber, CCL5 apresentou correlação negativa com peso (Figura 3A), IMC (Figura 3B), porcentagem de gordura (Figura 3C) e VLDL (Figura 3D); além dos parâmetros antropométricos de circunferência da cintura (Figura 3E), circunferência abdominal (Figura 3F), circunferência do quadril (Figura 3G), circunferência do braço (Figura 3H) e as pregas cutâneas subescapular (Figura 3I) e supra ilíaca (Figura 3J). Para as variáveis de triglicerídeos, prega cutânea tricípital e bicípital não foram encontradas correlações significativas ($p > 0,05$), esses valores não significativos estão apresentados na tabela 6.

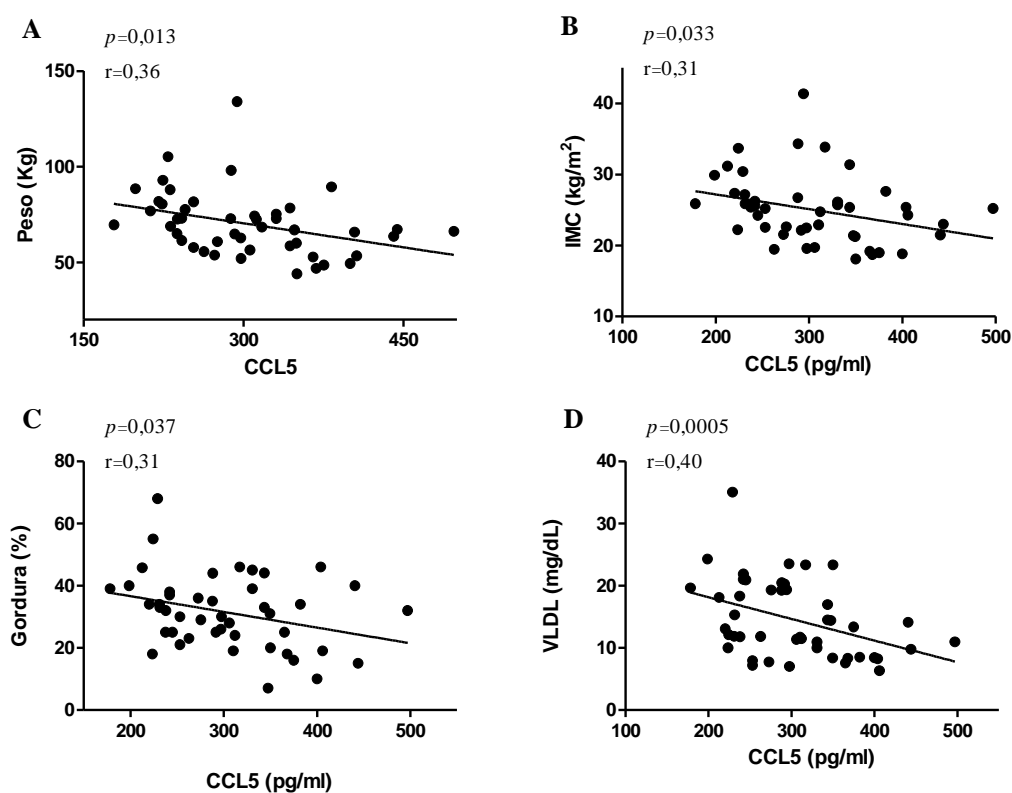


Figura 3 – Correlação da quimiocina CCL5. A CCL5 foi relacionada com o peso peso (Figura 3A), IMC (Figura 3B), porcentagem de gordura (Figura 3C) e VLDL (Figura 3D). $P<0.005$ = existência de diferença significativa.

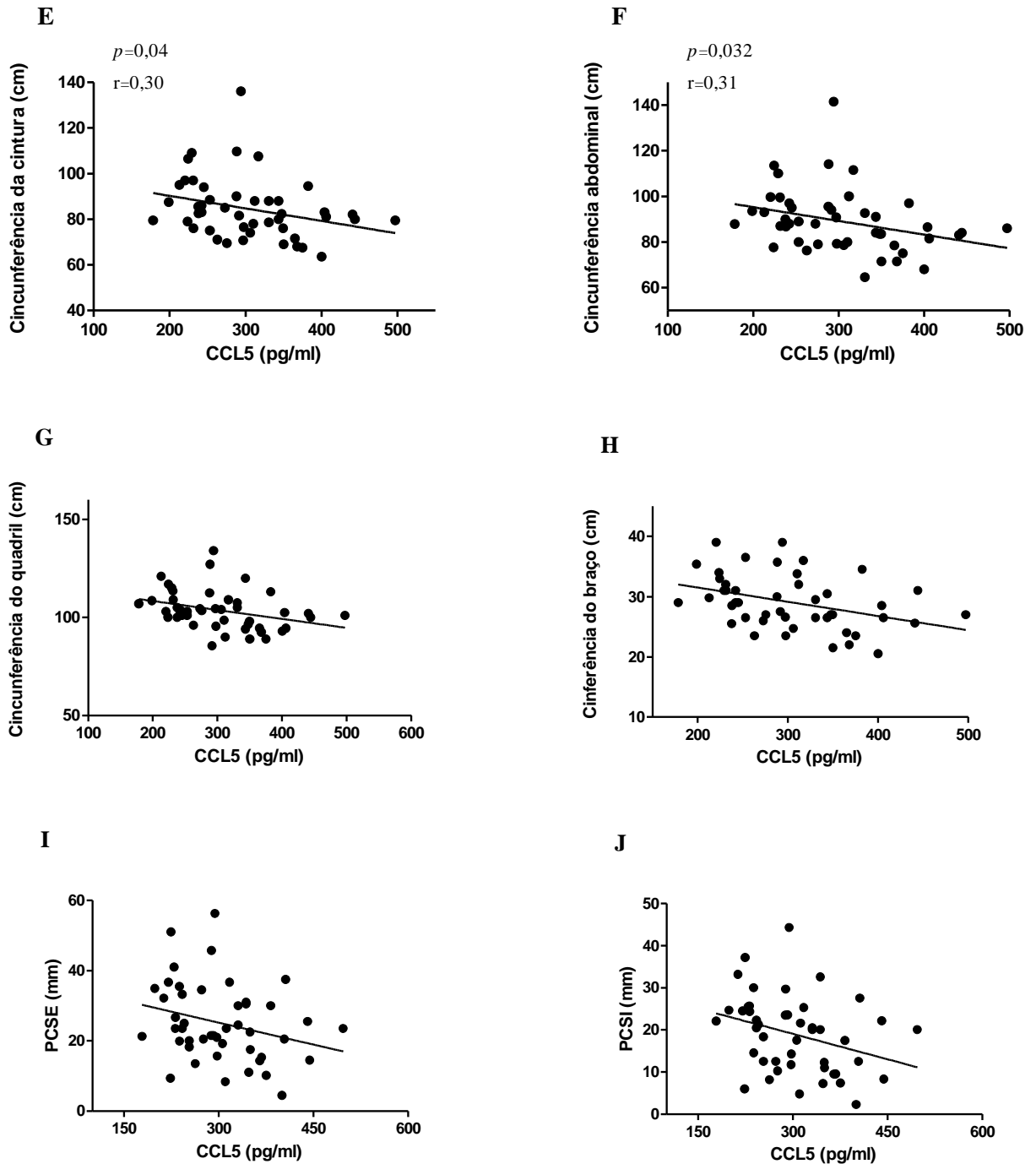


Figura 3 – Correlação da quimiocina CCL5. A CCL5 foi relacionada com circunferência da cintura (Figura 3E), circunferência abdominal (Figura 3F), circunferência do quadril (Figura 3G), circunferência do braço (Figura 3H) e as pregas cutâneas subescapular (Figura 3I) e supra ilíaca (Figura 3J). $P<0.005$ = existência de diferença significativa.

Em relação à quimiocina CCL2, responsável pela quimiotaxia de monócitos/macrófagos para o sítio inflamatório, foi também estabelecido um estudo de correlação com parâmetros

antropométricos mais relevantes desse estudo. A CCL2 apresentou correlação positiva para o peso (Figura 4A), para o IMC (Figura 4B), porcentagem de gordura corporal (Figura 4C) e circunferência da cintura (Figura 4D), circunferência do quadril (Figura 4E), circunferência abdominal (Figura 4F), circunferência do braço (Figura 4G) e a prega cutânea supra ilíaca (Figura 4H). A quimiocina também apresentou correlação positiva como o exames bioquímicos de triglicérides (Figura 4I). Não houve associação significativa quando relacionado às concentrações de CCL2 e as pregas cutâneas bicipital, tricípital e subescapular, (tabela 6).

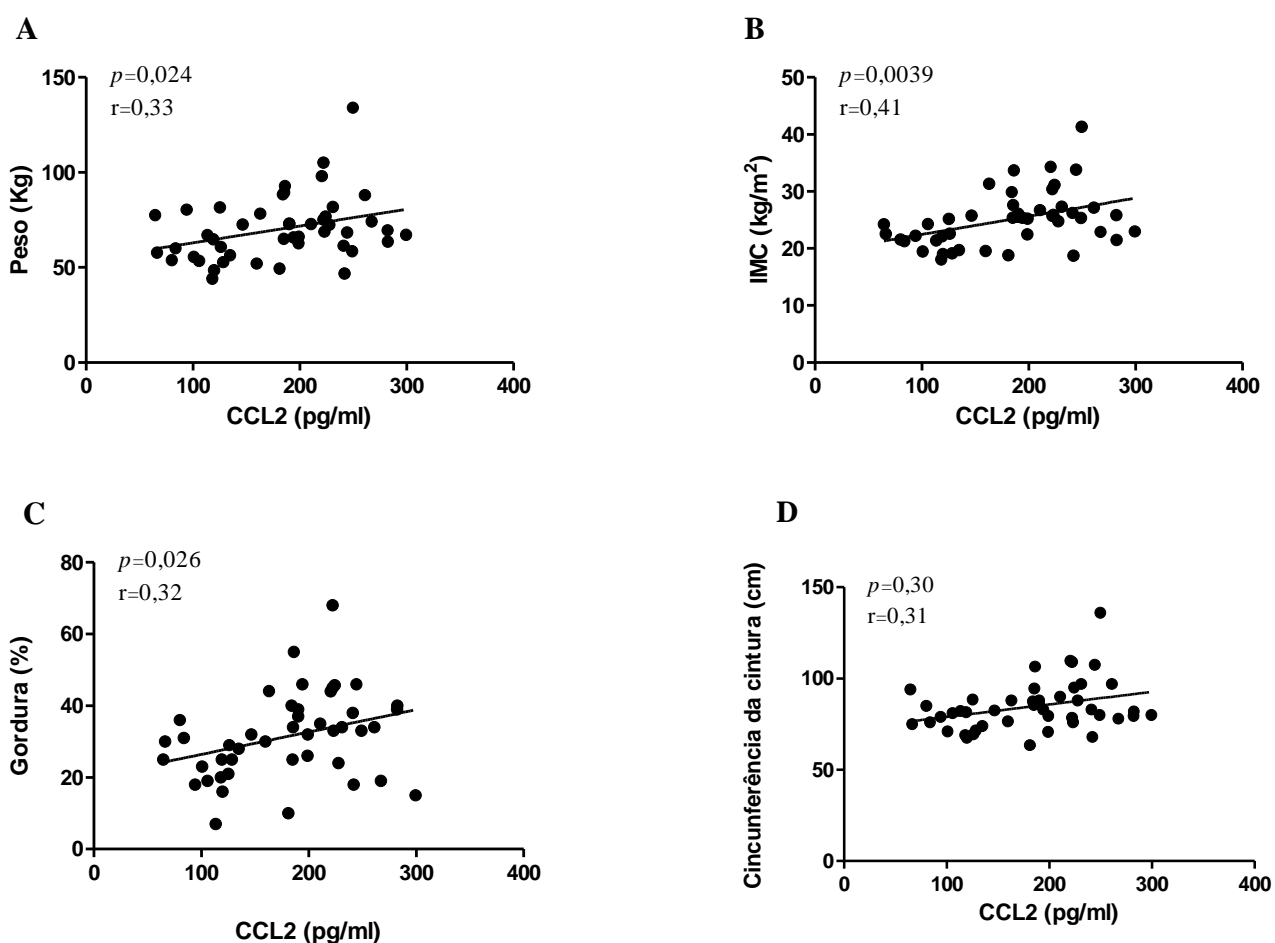


Figura 4 – Correlação da quimiocina CCL2. A CCL2 foi relacionada peso (Figura 4A), para o IMC (Figura 4B), porcentagem de gordura corporal (Figura 4C) e circunferência da cintura (Figura 4D). $P<0.005$ = existência de diferença significativa.

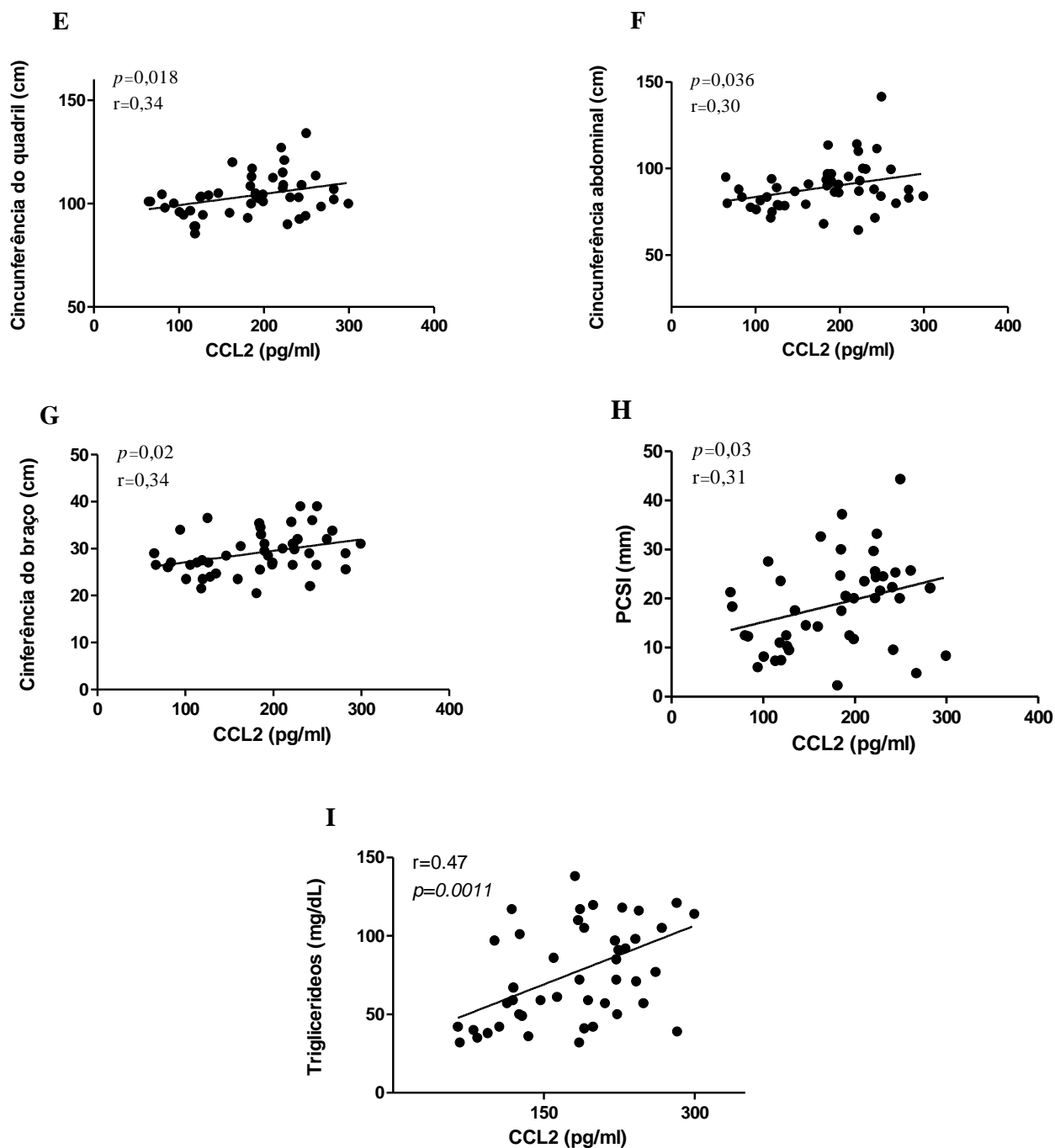


Figura 4 – Correlação da quimiocina CCL2. A CCL2 foi relacionada circunferência do quadril (Figura 4E), circunferência abdominal (Figura 4F), circunferência do braço (Figura 4G), a prega cutânea supra ilíaca e de triglicérides (Figura 4I). (Figura 4H). $P<0,005$ = existência de diferença significativa.

Em relação à quimiocina CXCL16, as suas concentrações plasmáticas apresentaram correlação positiva com o peso (Figura 5A), IMC (Figura 5B), porcentagem de gordura (Figura 5C), circunferência da cintura (Figura 5D), circunferência abdominal (Figura 5E) e as pregas cutâneas bicipital (Figura 5F), subescapular (Figura 5G) e supra ilíaca (Figura 5H). Além do exame bioquímico VLDL (Figura 5I).

Não houve associação significativa quando relacionado às concentrações de CXCL16 com triglicerídeos, circunferência do quadril, circunferência do braço e as pregas cutâneas bicipital e tricipital (tabela 6).

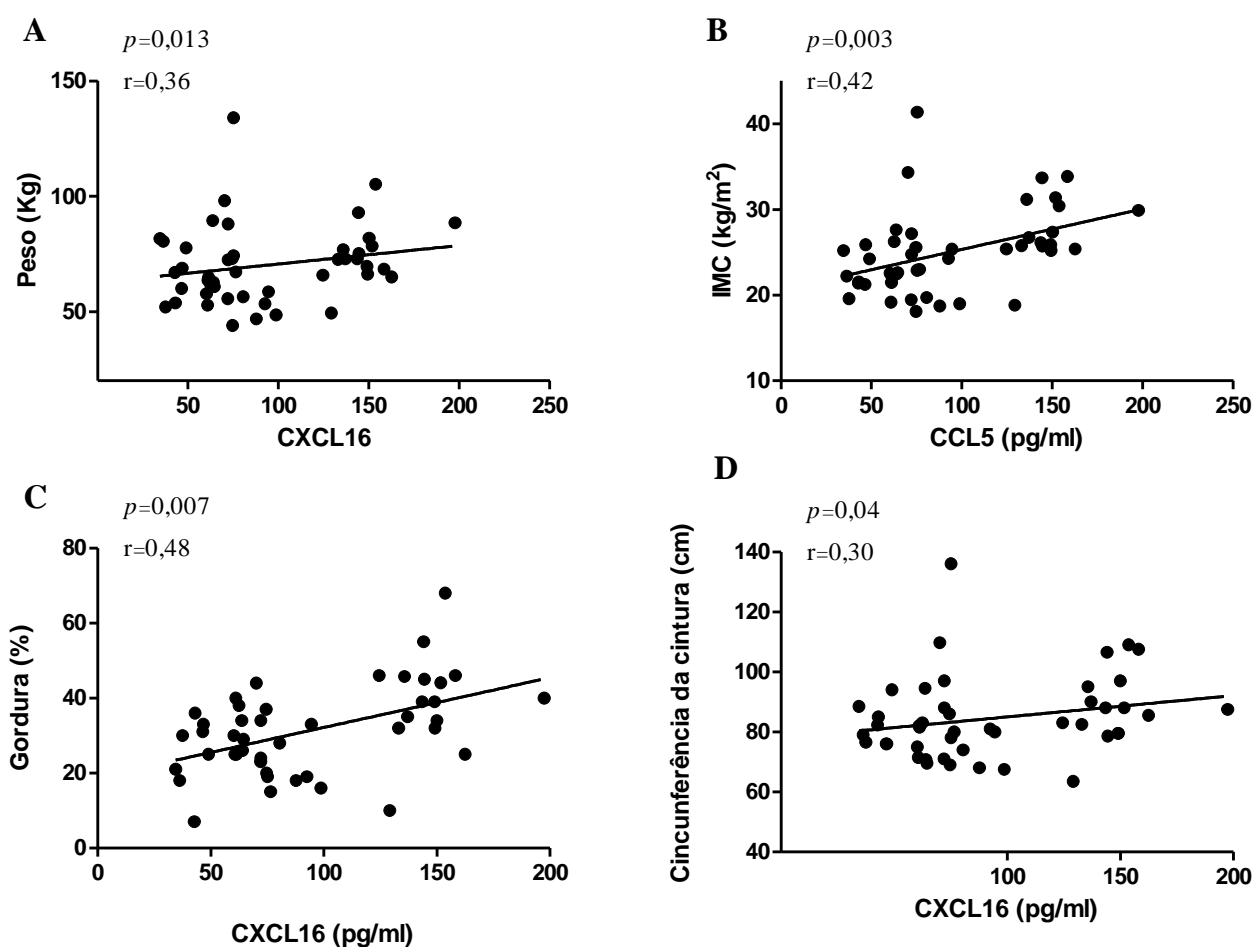


Figura 5 – Correlação da quimiocina CXCL16. A CXCL16 foi relacionada peso (Figura 5A), IMC (Figura 5B), porcentagem de gordura (Figura 5C), circunferência da cintura (Figura 5D). $P<0,005$ = existência de diferença significativa.

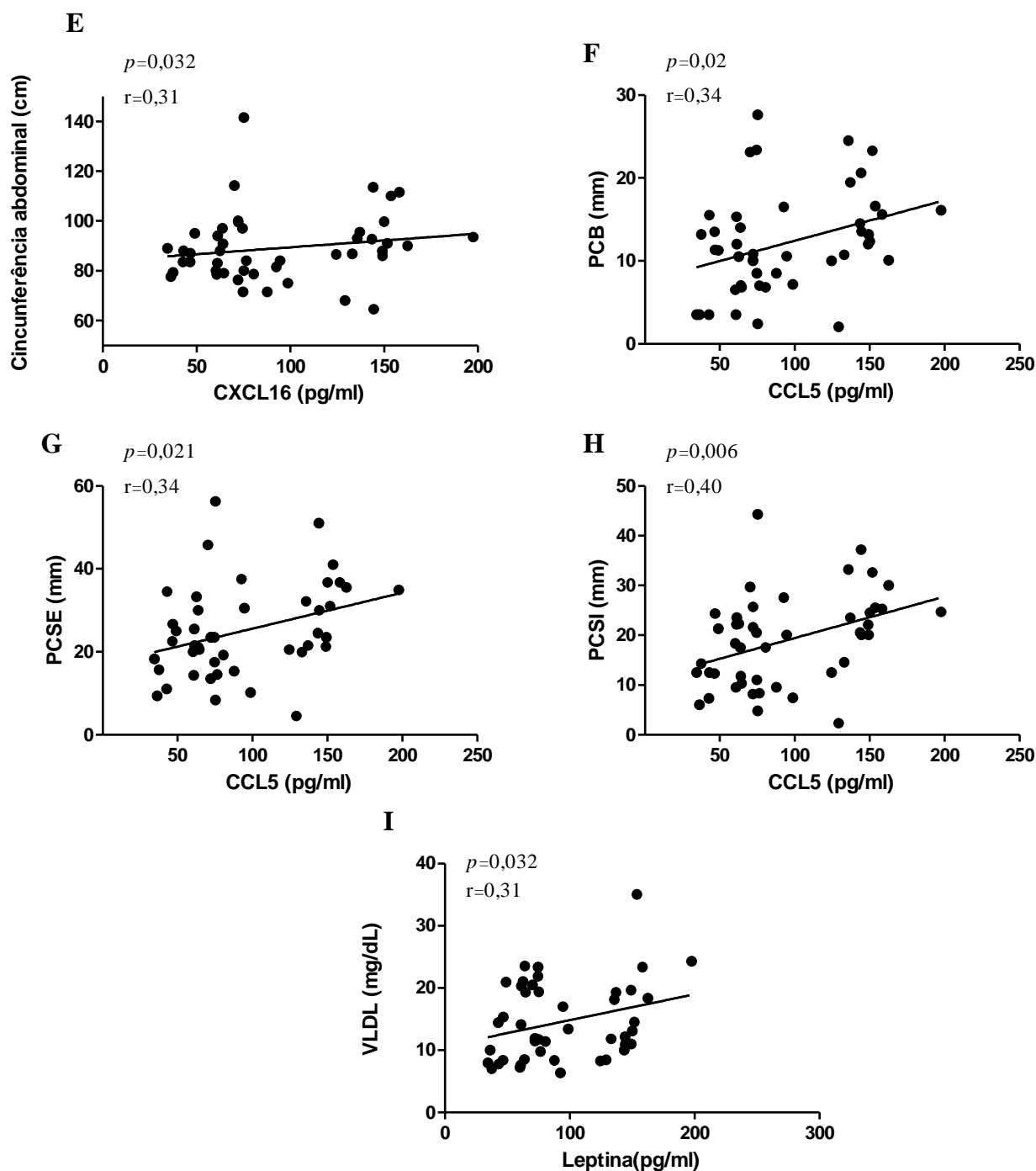


Figura 5 – Correlação da quimiocina CXCL16. A CXCL16 foi correlacionada com a circunferência abdominal (Figura 5E), pregas cutâneas bicipital (Figura 5F), pregas cutâneas subescapular (Figura 5G), pregas cutâneas supra ilíaca (Figura 5H) e VLDL (Figura 5I). $P < 0,005$ = existência de diferença significativa.

As concentrações plasmáticas de resistina presente no soro dos indivíduos avaliados nesse estudo apresentaram correlação positiva para o peso (Figura 6A), para o IMC (Figura

6B), porcentagem de gordura corporal (Figura 6C), para a circunferência: abdominal (Figura 6D), cintura (Figura 6E), quadril (Figura 6F) e braço (Figura 6G). Bem como para as pregas cutâneas: bicipital (Figura 6H), subescapular (Figura 6I), supra ilíaca (Figura 6J) e tricipital (Figura 6K) e também para os níveis de VLDL (Figura 6L). Já os valores de triglicerídeos não se correlacionaram significativamente com as concentrações de resistina ($p > 0,05$), dado apresentado na tabela 6.

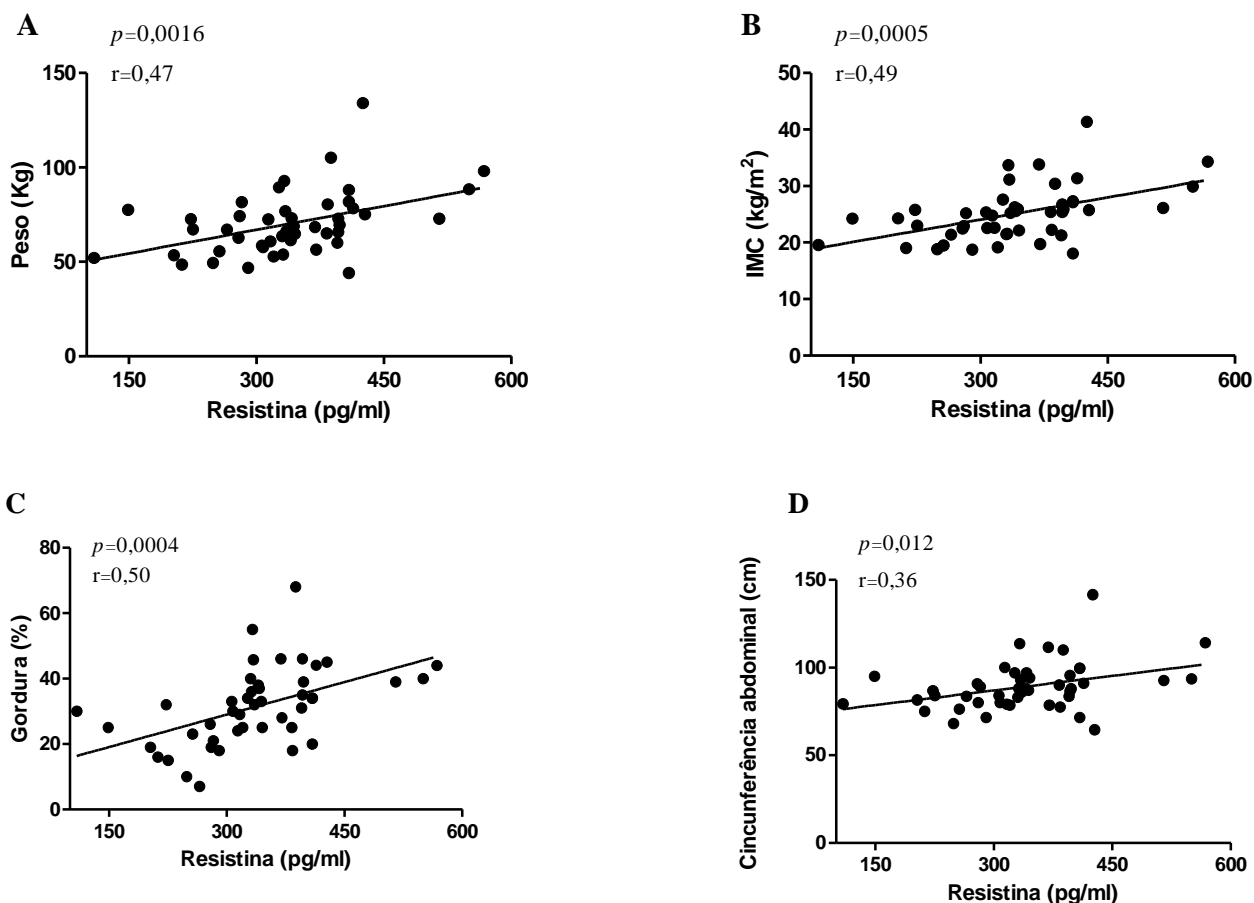


Figura 6 – Correlação da adipocina resistina. A resistina foi relacionada com peso (Figura 6A), para o IMC (Figura 6B), porcentagem de gordura corporal (Figura 6C) e circunferência abdominal (Figura 6D). $P < 0,005$ = existência de diferença significativa.

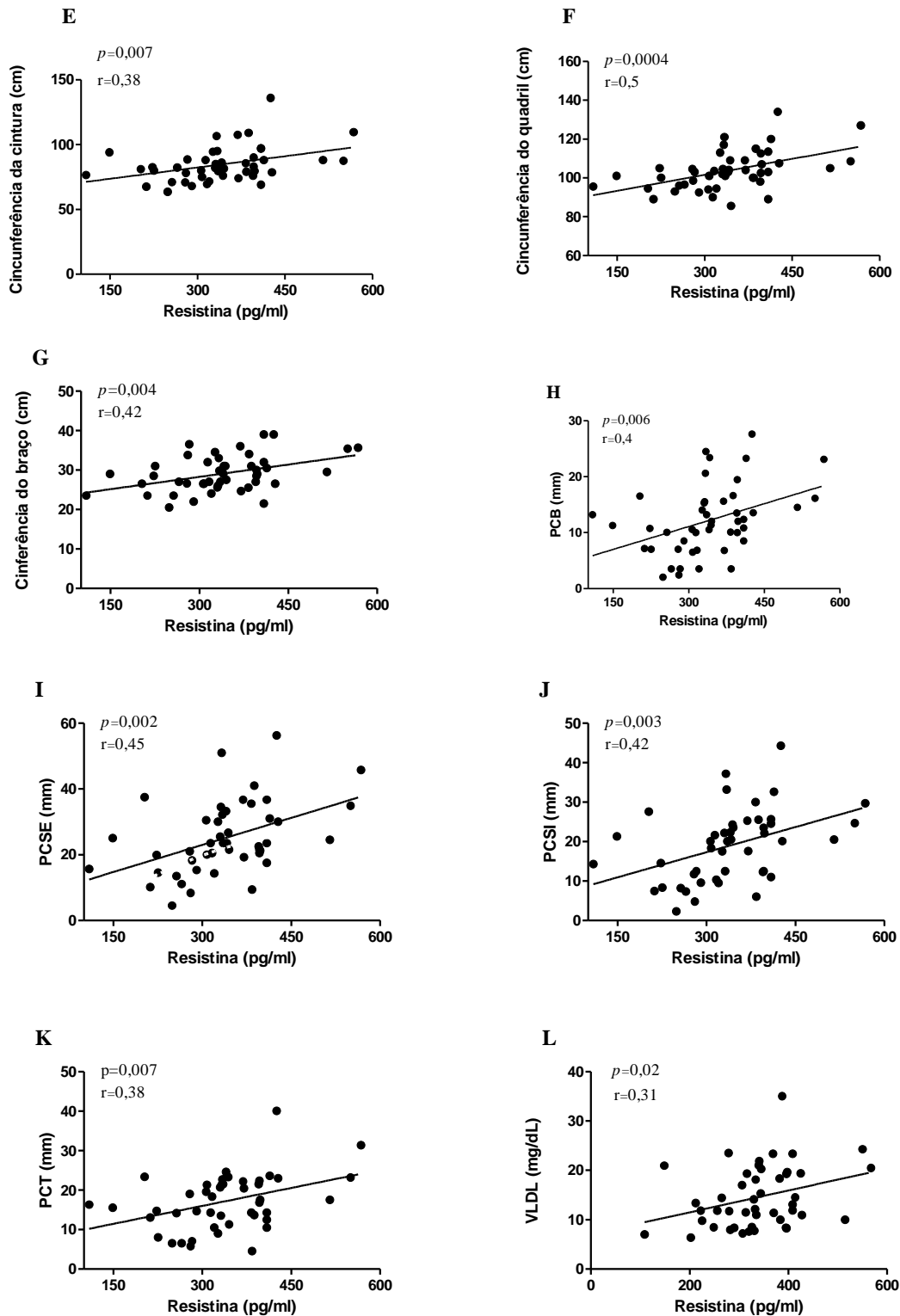


Figura 6 – Correlação da adipocina resistina. A resistina foi relacionada com circunferência da cintura (Figura 6E), circunferência quadril (Figura 6F), circunferência do braço (Figura 6G). Pregas cutâneas: bicipital (Figura 6H), subescapular (Figura 6I), supra ilíaca (Figura 6J) e tricipital (Figura 6K) e VLDL (Figura 6L). $P<0,005$ = existência de diferença significativa.

Já a leptina, um importante e já conhecido marcador biológico associado à obesidade, também apresentou correlação positiva com os seguintes parâmetros antropométricos avaliados: peso (Figura 7A), IMC (Figura 7B), circunferência abdominal (Figura 7C), circunferência do quadril (Figura 7D) e as pregas cutâneas: bicipital (Figura 7E), tricípital (Figura 7F), subescapular (Figura 7G), supra ilíaca (Figura 7H). Os exames bioquímicos triglicéridos (Figura 7I) e VLDL (Figura 7J) também apresentaram correlação positiva com a leptina. Para as variáveis porcentagem de gordura corporal e PCT não foram encontradas correlação significativa ($p > 0,05$), (tabela 6).

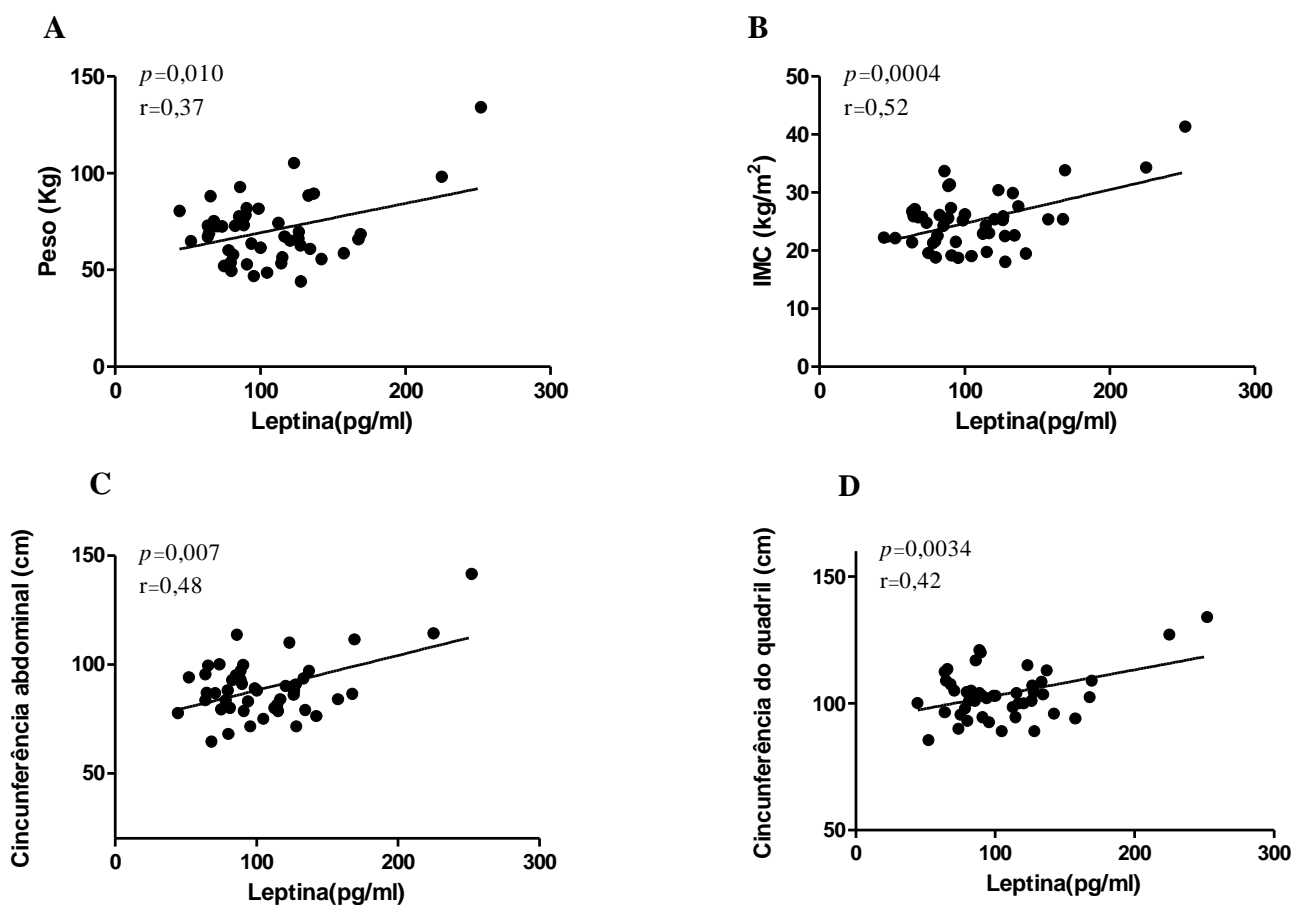


Figura 7 – Correlação da adipocina leptina. A leptina foi relacionada com peso (Figura 7A), IMC (Figura 7B), circunferência abdominal (Figura 7C), circunferência do quadril (Figura 7D) $P < 0.005$ = existência de diferença significativa.

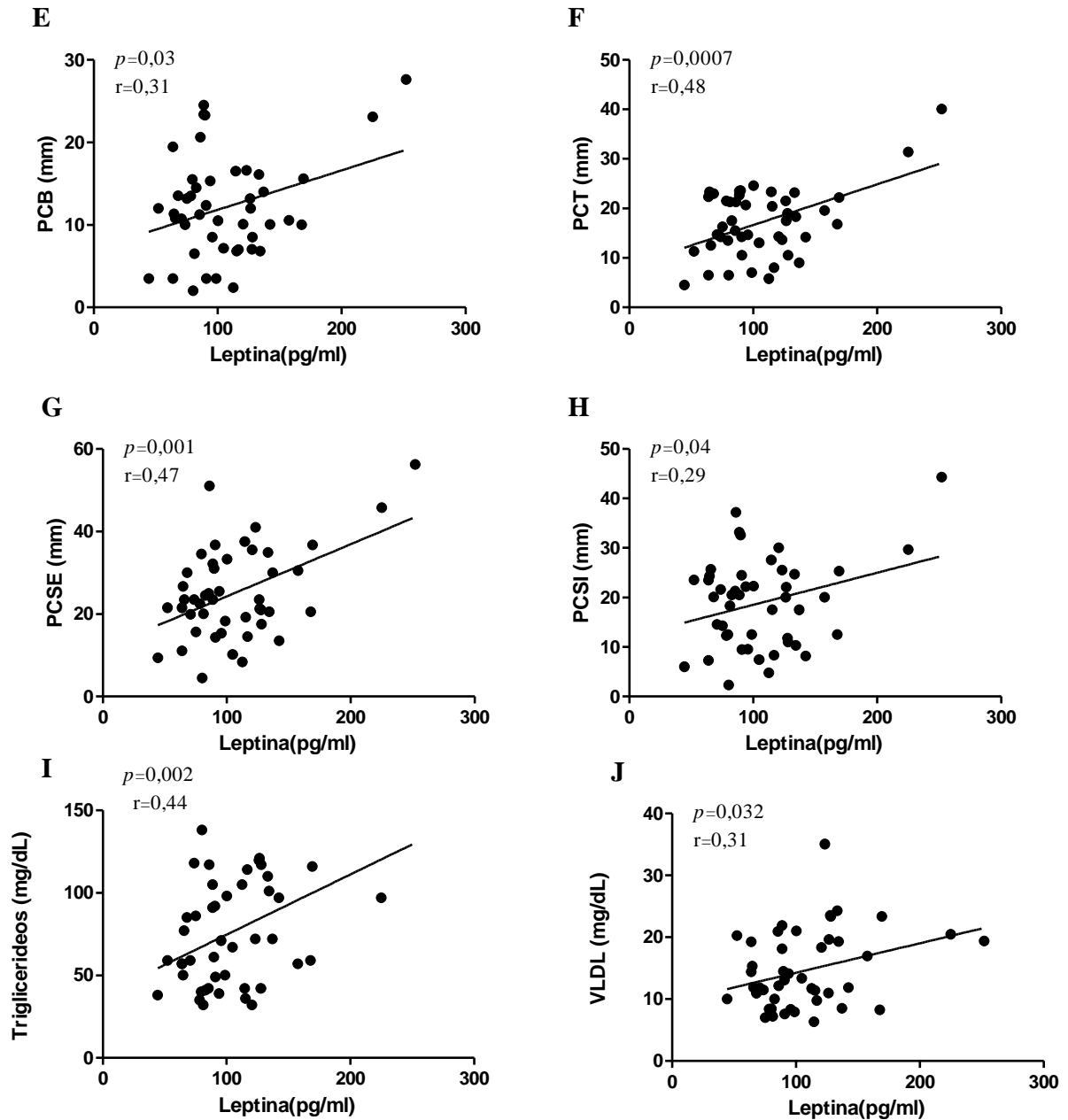


Figura 7 – Correlação da adipocina leptina. A leptina foi relacionada as pregas cutâneas: bicipital (Figura 7E), tricípital (Figura 7F), subescapular (Figura 7G), supra ilíaca (Figura 7H). Os exames bioquímicos triglicerídeos (Figura 7I) e VLDL (Figura 7J). $P < 0,005$ = existência de diferença significativa.

A tabela abaixo especifica as correlações das quimiocinas e adipocinas que não apresentaram diferença significativa com os dados de medidas antropométricas, porcentagem de gordura corporal e exames bioquímicos dos voluntários participantes do projeto.

Tabela 6: Ausência de correlação entre CCL2, CCL5, CXCL16, resistina e leptina com parâmetros bioquímicos e antropométricos.

	Quimiocinas			Adipocinas	
	CCL5	CCL2	CXCL16	Resistina	Leptina
Triglicerídeos (mg/dl)	<i>P</i> = 0,9	—	<i>P</i> = 0,10	<i>P</i> = 0,4	—
VLDL (mg/dl)		<i>P</i> = 0,10			
PCT (mm)	<i>P</i> = 0,5	<i>P</i> = 0,13	<i>P</i> = 0,09		
PCB (mm)	<i>P</i> = 0,25	<i>P</i> = 0,10	<i>P</i> = 0,11		
CB (cm)					<i>P</i> = 0,065
PCSE (mm)		<i>P</i> = 0,08	<i>P</i> = 0,07		
% gordura corporal					<i>P</i> = 0,10
Circunferência do quadril (cm)			<i>P</i> = 0,23		

CB: circunferência do braço; PCT: prega cutânea tricipital; PCB: prega cutânea bicipital; PCSE: prega cutânea subescapular, nem mesmo com o parâmetro bioquímico VLDL (very low density lipoprotein): lipoproteína de muito baixa densidade apresentando todas um ($p > 0,05$).

6.0 - Discussão

A epidemia global da obesidade é uma realidade em nossa sociedade há mais de quatro décadas e as estratégias profiláticas para seu controle ainda são arcaicas e pouco expressivas, principalmente por se confrontarem com produtos ofertados pelas empresas alimentícias, automobilísticas e de equipamentos eletroeletrônicos (computadores, TVs, escadas-rolantes etc), mantenedores do indivíduo em sua zona de conforto, em sua residência, em seu quarto, em seu estado de sedentarismo. As taxas de obesidade em indivíduos adultos e idosos, principalmente em países considerados “desenvolvidos” têm crescido exponencialmente nas últimas décadas e, mesmo cientes dessa cadástrofe futura na saúde e na economia mundial, poucos governantes têm, de fato, se mobilizado e propostos ações profiláticas para contê-las (Gortmarker et al. 2011). Mas uma tendência já desperta a atenção de profissionais da área de saúde, o sobrepeso e a obesidade que antes era evidenciado na segunda metade da vida, começa a se destacar em crianças e jovens como catalisadores de doenças crônicas e de mortalidade precoce na fase adulta.

A obesidade, além de constituir-se uma doença, é também um fator de risco para inúmeras doenças crônicas não transmissíveis como as cardíacas, acidentes vasculares cerebrais, câncer, diabetes e doenças respiratórias. O excesso de peso é hoje reconhecido como um dos cinco mais importantes fatores responsáveis pela mortalidade mundial (hipertensão 13%, tabagismo 9%, hiperglicemia 6%, inatividade física 6% e excesso de peso ou obesidade 5%), além da contribuição para o aumento de diversas doenças em diferentes continentes (OMS, 2009).

Reconhecendo-se a obesidade como uma doença inflamatória crônica basal e por isso uma condição patológica onde coexistem produtos da resposta imune, a identificação de marcadores capazes de prever ou identificar precocemente o aparecimento de comorbidades, tornam-se importantes estratégias de investigação. No presente estudo, indivíduos jovens foram agrupados de acordo com o critério de eutrofia, sobrepeso e obesidade e parâmetros antropométricos, bioquímicos e inflamatórios avaliados e correlacionados.

O colesterol é um importante marcador já utilizado na rotina clínica como “mediador” preditor de doenças vascular (Prado et al. 2009). É relevante observar que os valores de colesterol dos indivíduos participantes desse estudo não diferiram entre os grupos, apresentando nível médio de colesterol acima de 200 mg/dL. Os dados encontrados merecem atenção, pois estes indivíduos apesar de apresentarem índice de massa corpórea (IMC) com eutrofia, mostram

uma porcentagem de gordura corporal elevada (maior que 24%) para a faixa 18 a 30 anos sendo o recomendado pela OMS o máximo de 20% (Acuña et al, 2008).

Outro marcador empregado nesse estudo foi a medida da circunferência da cintura, altamente prevalente em indivíduos acima de 40 anos de idade pelas próprias condições. Mesmo sendo este estudo focado em indivíduos mais jovens (abaixo de 30 anos de idade), observou-se que, 52% dos indivíduos com sobrepeso apresentavam a circunferência da cintura acima do indicado para seu sexo e faixa etária apresentando, assim, elevado risco para o desenvolvimento de doenças relacionadas à obesidade. A medida de circunferência da cintura aumentada indica aumento da gordura visceral e tem sido destacada como preditora independente de distúrbios metabólicos e hemodinâmicos (Anjos et al, 2009). Por outro lado, 18% dos indivíduos eutróficos também apresentaram a circunferência da cintura (cm) aumentada, reforçando a baixa sensibilidade do IMC como parâmetro para avaliação de risco da adiposidade. Estudos têm revelado que o acúmulo de gordura na região abdominal, independente da idade, contribui para a fisiopatogênese da síndrome metabólica e está fortemente relacionado com o desenvolvimento de doença cardiovascular e morte prematura (Ritchie, et al 2007, Silveira et al, 2010).

Além dos marcadores antropométricos e bioquímicos clássicos, alguns marcadores circulantes de natureza proteica/peptídica têm se apresentado como estratégias promissoras para identificação de grupos de risco. A leptina é um bom exemplo de marcador peptídico circulante. Trata-se de um hormônio peptídico, codificado pelo gene *ob*, e expressa principalmente pelo tecido adiposo branco, especialmente pelo tecido subcutâneo, sendo este responsável por 80% da produção de leptina no ser humano (Antuna-Puente et al, 2008). A leptina tem um importante papel no controle do apetite, do metabolismo e do balanço energético corporal. Em condições fisiológicas, no pâncreas, a leptina é responsável pela supressão da secreção de insulina; no músculo mostra aumento da oxidação de ácidos graxos livres, do consumo de glicose e síntese de glicogênio e no tecido adiposo inibe a lipogênese e estimula a lipólise. Os indivíduos com obesidade apresentam níveis elevados de leptina, pois seus níveis séricos se correlacionam diretamente com a massa de tecido adiposo (Donohoe et al, 2010). Nos indivíduos obesos foram encontrados níveis plasmáticos elevados de leptina, quando comparado ao grupo de indivíduos eutróficos. Esse resultado é condizente com a literatura científica, pois sabe-se que a obesidade favorece o aumento das concentrações de leptina (Gomes et al, 2010). A hiperleptinemia observada parece não exercer função reguladora da obesidade, mas sim de resistência hipotalâmica ao receptor da leptina, resultando em uma redução dos efeitos biológicos desse hormônio (Wozniak et al, 2009).

Ainda no contexto da relação entre a hiperleptinemia e o estado de inflamação crônica durante a obesidade, é proposto que a leptina seja capaz de estimular a produção de TNF- α e MCP-1/CCL2, propiciando a ativação e o recrutamento de monócitos para o sítio da inflamação, nesse caso, os depósitos lipídicos (Donohoe et al, 2010). Por outro lado, parece também que o TNF- α e a interleucina 6 (IL-6) são capazes de estimular a produção de leptina pelos adipócitos, criando um *feedback* positivo. O óxido nítrico sintase (NOS) e espécies reativas de oxigênio (ROS), também induzem a ativação, proliferação e migração de monócitos circulantes. Esses achados suportam a teoria de a leptina ser o elo entre o estado nutricional e a função celular imune (Wozniak et al, 2009).

Em indivíduos jovens observou-se que a leptina apresentou correlação positiva com o peso, IMC, circunferência abdominal, circunferência da cintura, circunferência do quadril e os níveis de VLDL e triglicerídeos resultados similares aos observados em um estudo de coorte realizado com mulheres obesas mórbidas jovens, com idades similares aos indivíduos do nosso presente estudo. Nesse estudo as mulheres com IMC < 40 kg/ml, a leptina plasmática foi positivamente correlacionada com variáveis antropométricas (IMC, circunferência da cintura, relação cintura-quadril) colesterol total, LDL, triglicerídeos plasmáticos, AST, ALT e negativamente ao HDL (Garcia Lorda P et al, 2011).

Da mesma forma, avaliou-se a produção plasmática de outro mediador denominado resistina. Ele foi recentemente descoberta e pertence a uma família de proteínas ricas em cisteína, e é secretada por monócitos e adipócitos, sendo encontrada em regiões de inflamação (Carvalho et al, 2006). A resistina é expressa, especificamente, no tecido adiposo branco e sua secreção esta fortemente relacionada à resistência a insulina, mediante prejuízo na sinalização da insulina e captação de glicose, ela aumenta a produção de endotelina-1 (potente vasoconstritor) e CCL2/MCP1 (Filková et al, 2009). Os níveis de resistina encontram-se elevados em camundongos obesos geneticamente ou por dieta, assim como em indivíduos obesos (Fantuzzi et al, 2007). Esses estudos reforçam nossos achados onde níveis de resistina encontrado nos indivíduos obesos apresentaram-se mais elevados do que nos indivíduos eutróficos.

A expressão da resistina pode também estar aumentada em até 20% em populações com diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) do que naquelas sem (Stofkova et al, 2010). Em relação aos depósitos específicos de gordura corporal, é descrito para o tecido adiposo visceral uma expressão duas a três vezes maior de resistina, seguido dos subcutâneo abdominal e subcutâneo glúteo-femural, podendo esse aumento ser um importante elo entre obesidade abdominal e DM2. Além disso, detectou-se sua expressão é três vezes maior em pré-adipócitos quando

comparada aos adipócitos maduros, sugerindo-a como potencial reguladora da adipogênese (Hermsdorff et al, 2004).

Em indivíduos jovens, observamos correlação positiva com o peso, IMC, porcentagem de gordura, circunferências abdominais, exame bioquímico de VLDL e as pregas cutâneas. Resultados semelhantes foram descritos por Azuma, et al, em adultos jovens (idade $30 \pm 5,2$) após 1,5 anos em um programa de redução de peso (atividade física +dieta). Nesse estudo, os indivíduos obesos apresentaram níveis maiores de resistina com uma correlação positiva com IMC, gordura corporal e glicose, porém a análise transversal não apresentou nenhuma alteração dos fatores correlacionados com esse marcador plasmático. É proposto, ainda, que a inflamação sistemática leva a um aumento da produção e circulação dos níveis de resistina em indivíduos obesos, esse aumento é provavelmente um resultado indireto de níveis elevados de citocinas inflamatórias características de estados de aumento da adiposidade (De Luis et al, 2011).

Outra evidencia que liga a resistina à inflamação e que os níveis de resistina plasmáticos foram associados com vários marcadores inflamatórios em algumas condições patológicas. Em indivíduos com sinais inflamatórios graves, foi encontrada uma correlação positiva entre a resistina e os marcadores inflamatórios, dentre eles IL-6, PCR, ICAM-1 e que é preditiva da aterosclerose em humanos, sugerindo ser, a resistina um elo entre sinais metabólicos, inflamação e aterosclerose (Reilly et al, 2005; Tilg et al, 2006).

Além dos mediadores inflamatórios descritos anteriormente, nesse estudo avaliou-se também a quimiocina CCL2, CCL5 e CXCL16. É sabido que o tecido adiposo tem, na sua constituição, macrófagos residentes. Pelo processo inflamatório de baixa intensidade presente nesse tecido ou quando este tecido se torna disfuncional, há um aumento do infiltrado de macrófagos, decorrente do aumento na produção de CCL2 pelos adipócitos (Maury & Brichard, 2010). Em decorrência de maior quantidade de gordura corporal os indivíduos obesos podem apresentar uma elevação nas concentrações de CCL2. De fato, nossos resultados mostraram que indivíduos obesos apresentam níveis maiores dessa quimiocina quando comparado com os indivíduos do grupo eutrófico. Observou-se, também, que as concentrações de CCL2, apresentaram correlação positiva para peso e IMC e dados de circunferência da cintura e abdominal, as pregas cutâneas e os valores de triglicerídeos e VLDL.

A CCL2 é considerada um marcador de inflamação em diversas doenças, principalmente nas cardiovasculares e também é expressa nas fases iniciais da aterosclerose. Apresenta-se envolvida na aterogênese através de diferentes mecanismos, promovendo o recrutamento de monócitos e linfócitos T circulantes do sangue para o espaço subendotelial, estes monócitos periféricos recrutados podem diferenciar-se em macrófagos ativos (Dwyer et

al, 2007). Paralelamente, os pré-adipócitos também têm a capacidade de se diferenciar em macrófagos e a CCL2 contribui para a diferenciação dos macrófagos em células espumosas, reforçando o estabelecimento da placa aterosclerótica. Os produtos derivados dos macrófagos ativos podem afetar também a função dos adipócitos e estão envolvidos em alterações do processamento da glicose nestas células, contribuindo para a insulino-resistência. Entretanto é necessário que novos estudos sejam conduzidos sobre esta quimiocina quanto as suas funções e mecanismos de ação (Donohoe et al, 2010).

Outra quimiocina envolvida no recrutamento de macrófagos para o tecido adiposo e envolvido na patogênese da insulina é a CCL5, também conhecida como RANTES (*Regulated on Activation Normal T-Cell Expressed and Secreted*). Além de macrófagos, essa quimiocina também atua no recrutamento de linfócitos T, eosinófilos, basófilos para o sítio inflamatório (Camargo et al, 2011). Nos resultados obtidos em nosso estudo, observamos o aumento das concentrações de CCL5 nos indivíduos obesos quando comparado ao grupo eutrófico, fato que pode ser explicado pela obesidade estar relacionada a um estado de baixo grau de inflamação sistêmica. As quimiocinas secretadas pelos adipócitos podem iniciar uma infiltração de leucócitos no tecido adiposo e, assim, mediar um passo importante para o estabelecimento de ativação imune crônica (Camargo et al, 2011). O estudo de Camargos et al. foi realizado com adipócitos maduros, sendo as células estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS), IFN-gama, interleucina 4 (IL-4) e exposta à baixa pressão de oxigênio. A CCL5 foi expressa e secretada continuamente na maioria das amostras de adipócitos, sendo a sua liberação dependente do tamanho dos adipócitos e também apresentou elevação a partir de células de doadores obesos. A hipóxia (4%) causou um aumento de aproximadamente 36% de liberação de CCL5 (Skurk T et al, 2009).

A terceira e última quimiocina estudada foi identificada recentemente, a proteína chamada CXCL16 combina as funções e propriedades de uma quimiocina inflamatória. A CXCL16 é transmembranar e composta de um domínio quimiocina extracelular. Esse domínio atua como um receptor facilitando a absorção e eliminação LDL-ox, fosfatidilserina, favorecendo a formação de células espumosas (Abel et al, 2004). A proteína CXCL16 é expressa em macrófagos e células musculares lisas aórticas e sua expressão está aumentada nas placas ateroscleróticas. A expressão da CXCL16 também tem sido associada com algumas doenças inflamatórias, incluindo artrite reumatoide, doenças intersticiais pulmonares, doença arterial coronariana e lesão hepática (Sheikine et al, 2008). O receptor de CXCL16, CXCR6, tem sido relatado como sendo expressos em células Th1, em linfócitos infiltrados tumorais e numa variedade de leucócitos em sítios de tecidos inflamados (Ruth et al, 2006).

Um estudo realizado por Yongqing Lv et al mostrou a associação de CXCL16/CXCR6 com aterosclerose carotídea em pacientes com síndrome metabólica (Yongqing Lv, 2013). Pacientes com síndrome metabólica apresentaram aumento significativo da circunferência da cintura, colesterol total, triglicerídeos e aumento de anomalias da estrutura e função da artéria carótida. Esses pacientes apresentaram os níveis de CXCL16 e expressão de CXCL16 aumentados, bem como o número de células CXCR6 + células T associado ao índice de formação de placa aterosclerótica. Em nosso estudo, também observamos maiores concentrações plasmáticas dessa quimiocina em indivíduos com obesidade.

A saber, a disfunção imune está envolvida na iniciação e progressão da aterosclerose, leucócitos encontrados na região aterosclerótica são principalmente macrófagos e linfócitos T, que podem promover a formação de placas e a sua instabilidade. A CXCL16/solúvel funciona como um mediador de células com perfil Th1, promovendo a migração de linfócitos e a absorção de ox-LDL para áreas de lesão aterosclerótica (Sheikine et al, 2008). Citocinas derivadas de células T poderiam contribuir para a produção de CXCL16 que por sua vez, levaria a um recrutamento de mais células T, formando uma retroalimentação positiva para aumentar a resposta imune no sítio da lesão aterosclerótica (Yongqing Lv, et al, 2013).

Ainda buscando novos marcadores com potencial aplicação na identificação de comorbidades associadas à obesidade, avaliou-se as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP), por representarem um produto do metabolismo dos osteoblastos, odontoblastos e de várias células tumorais (referências). Essas proteínas são encontradas no tecido ósseo, na dentina, onde se encontram armazenadas de forma mais concentrada, e também podem ser encontradas em alguns tumores de células ósseas (Ripamonti et al, 2001). Atualmente existe em torno de 20 proteínas morfogênicas descritas, dentre essas proteínas morfogenéticas ósseas, a BMP-2 possui a maior capacidade osteoindutora, ela induz o aumento das células mesenquimais pluripotenciais (células-tronco), com capacidade para se diferenciarem em células produtoras de tecido ósseo ou vascular (Wozney et al, 2005).

A manutenção do tecido ósseo é complexa e necessita de vários fatores circulantes como hormônios, proteínas e sais inorgânicos, esses fatores devem permanecer em equilíbrio caso contrário pode resultar em problemas ósseos, diminuindo a sua mobilidade e qualidade de vida. Para sustentar a força mecânica a que o tecido é submetido, diariamente, torna-se necessário um mecanismo de reparo aos microdanos estruturais no tecido e isso só é possível através da constante formação e absorção do tecido ósseo. As primeiras estruturas para a remodelação do tecido ósseo são as BMPs (Lindholm, 1996; Wozney et al, 2005) e criando a hipótese da sobrecarga do tecido adiposo sobre as estruturas ósseas, principalmente dos indivíduos mais

jovens, postulou-se a hipótese do BMP-2 estar elevado em indivíduos obesos ou com sobrepeso. No entanto, não observamos diferenças nas concentrações de BMP-2 nos diferentes grupos avaliados.

Excetuando o BMP-2, os demais mediadores estudados (tanto os já descritos quanto os denominados “novos”) apresentaram sua maior produção associada à obesidade e, na maioria dos casos, ao sobrepeso. Esses dados sugerem que, se o indivíduo obeso é aquele com maiores riscos de desenvolver comorbidades e levar o indivíduo ao óbito, o indivíduo com sobrepeso encontra-se com riscos mais próximos dos obesos que daqueles considerados eutróficos. E ainda, conclui-se que as quimiocinas e os marcadores denominados adipocinas (leptina e resistina), bem como o TNF-alfa são bons marcadores para a obesidade pela identificação dos grupos de indivíduos e pelas correlações favoráveis com outros marcadores bioquímicos e antropométricos clássicos, merecendo maior atenção em estudos futuros associados às doenças secundárias associadas ao quadro da obesidade.

7.0 – Conclusão

Com base nos marcadores inflamatórios plasmáticos clássicos (Leptina e Resistina), bem como nos novos marcadores avaliados (quimiocinas CCL2, CCL5 e CXL16), conclui-se que os indivíduos com sobrepeso, de forma similar aos indivíduos obesos, apresentam maiores níveis plasmáticos desses marcadores inflamatórios, sugestivos de pré-condição para o desenvolvimento de comorbidades associadas à obesidade.

8.0- Referências bibliográficas

Acunã et al, Avaliação do Estado Nutricional de Adultos e Idosos e Situação Nutricional da População Brasileira. Arq Bras Endocrinol Metab vol 48 n° 3 Junho 2004. 12(8) 234:564

Anjos LA. Índice de massa corporal (massa corporal x estatura) como indicador do estado nutricional de adultos: revisão da literatura. Rev Saude Publica 1992;26:431-6.

Antuna-Puente B et al. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. Diabetes Metab. 2010. 34(1):2-11.

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica - ABESO. Custos da obesidade no Brasil e no mundo. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/>.

Azuma K, Katsukawa F. Correlação entre o nível de resistina soro e adiposidade em indivíduos obesos. Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da Universidade de Keio, Japan. Pesquisa Obesidade. 2003. 11 (8) :997-1001.

Bányasz, I. et al. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pré-eclampsia. Mol. Hum. Reprod., Oxford, 2006. 233-236, 2006.

Batista Filho M, et. al. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. Cad Saúde Pública 2003;19 (sup 1): S181-S191.

Bhardwaj, S., H, et al. "VEGF-A, VEGF-D and VEGF-D-Delta N Delta C induced intimal hyperplasia in carotid arteries." *European Journal of Clinical Investigation* . 2005. **35**(11): 669-676

Borges, R.L. et.al. Impacto da perda de peso nas adipocitocinas, na proteína C-reativa e na sensibilidade à insulina em mulheres hipertensas com obesidade central . Arq. Bras. Cardiol. São Paulo.2007. 18(5)364:576

Bouloumié A, et al. Role of macrophage tissue infiltration in metabolic diseases. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005 8(4):347-54.

Brakenhielm E, et al. Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:2476-81.

Camargo, AEI; et al. Envolvimento das quimiocinas CCL2 e CCL5 na patogênese do câncer de mama / Involvement of CCL2 and CCL5 chemokines in breast cancer pathogenesis. *Rev. bras. anal. clin.* 2011. 43(2):116-120.

Carvalho MH, Colaco AL, Fortes ZB. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006;50(2):304-312.

Caspar-Bauguil, S et al. Adipose tissue lymphocytes: types and roles. *J Physiol Biochem*. 2009 65(4):423-36.

Castro, D.G.C. et al. Intervenção na obesidade em idosos. Monografia (Curso de especialização em Geriatria. Serviço de Geriatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 2005. 34(5) 175-192.

Correia MIT et al. Avaliação nutricional subjetiva. *Rev Brasileira Nutrição Clínica* 1998;13:68-73.

Cua, D.J. et al. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 2010. 10(9)479-489.

Darash-Yahana M, et al. The Chemokine CXCL16 and Its Receptor, CXCR6, as Markers and Promoters of Inflammation-Associated Cancers. *PLoS ONE*. 2009.

De Luis D. A, González M. S et al. Resistin levels and inflammatory markers in patients with morbid obesity. Instituto de Endocrinología y Nutrición Clínica. Medicine School and Unit of Investigation. 2011. Hospital Rio Hortega. RD-056/0013.

Dehoog S. et al. Avaliação do Estado Nutricional. In: Mahan KL, Escott-Stump S. Krause: Alimentos, nutrição & dietoterapia. 9a. ed, São Paulo: Roca, p.371-96, 1998.

Duncan BB, et al. The epidemiology of low-grade chronic systemic inflammation and type 2 diabetes. Source Graduate Studies Program in Epidemiology, School of Medicine, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. 2008.

Fantuzzi G et al. Adipose Tissue and Atherosclerosis: Exploring the Connection. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27:996-1003.

Fantuzzi G et al. Adipose tissue, adipokines and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115(5):911-919.

Filková M, Haluzík M, Gay S, et al. The role of resistin as a regulator of inflammation: Implications for various human pathologies; *Clin Immunol.* 2009;133(2):157-70.

Fruhbeck G et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signalling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metabol.* 2011;280:E827-47.

Fruhbeck G et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011; 280(6):E827-47.

Funahashi T et al. Adiponectin as a potential key player in metabolic syndrome Insights into atherosclerosis, diabetes and cancer. *Int Congress Series.* 2004; 1262:368-71.

Gnacińska, et al. Role of adipokines in complications related to obesity. A review. *Advances in Medical Sciences* · 2009 · 150-15710.

Gomes F et al. Obesidade e Doença Arterial Coronariana: Papel da Inflamação Vascular. *Arq Bras Cardiol* 2010; 94(2) : 273-279.

Gomez-Ambrosi J et al. Evidence for the involvement of resistin in inflammation and cardiovascular disease. *Curr Diabetes Rev.* 2005;1(3):227-34.

Gortmaker SL, Swinburn BA et al. Changing the future of obesity: Science, policy and action. 2011. Lancet 378: 838-847.

Guerreiro R et al.. Aa quimiocinas e seus receptores. Características e Funções Fisiológicas. Acta Med Port 2011; 24: 967-976.

Guimaraes, ACA et al. Excesso de peso e obesidade em escolares: associação com fatores biopsicológicos, socioeconômicos e comportamentais. Arq Bras Endocrinol Metab. 2012, 142-148.

Hernsdorff H. H.M et al. Visceral, subcutaneous or intramuscular fat: where is the problem? Arq Bras Endocrinol Metab v.48 n.6 São Paulo 2004.

Heyward VH et al. Avaliação da composição corporal aplicada. ed. São Paulo. Manole, 2005. 34(7) 154:765.

Hotamisligil G et al. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. J Clin Invest. 2005; 95: 2409-15.

Ikeoka D et al. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. Rev Associação de Medicina Brasileira 2010; 56(1): 116-21.

Iwakura, Y. et al. The roles of IL-17A in inflammatory immune responses and host defense against pathogens. Immunological Reviews. 2008. 226 (3) 5779.

Kershaw, E.E.; Flier, J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. J Clin Endocrinol Metab, 2004. 89(6):2548-56.

Leite L D et al. Obesity: an inflammatory disease. Revista Ciência & Saúde, Porto Alegre. 2009. 850-953-34.

Lopes, AC et al. Tratado de Clínica Médica. Editora Roca, São Paulo, 2006, vol. II.

Martin S et al. Leptin resistance. J Am Coll Cardiol. 2008; 52: 1201-10.

Murdolo G, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in subcutaneous abdominal adipose tissue: characterization of interstitial concentration and regulation of gene expression by insulin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007. 92(7):2688-95.

Muzumdar R et al. Physiologic effect of leptin on insulin secretion is mediated mainly through central mechanisms *FASEB J.* 2003; 17(9):1130-2.

Nishimura, S. et al. Adipose tissue inflammation in obesity and metabolic syndrome. *Discov Med.*, v. 8, n. 41, p. 55-60, 2009.

Nissen LP et al. Interventions in obesity treatments: a systematic review *Intervenciones para el tratamiento de la obesidad: una revisión sistemática. Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade.* 2012 10.5712 - (24)472.

OPAS- Organização pan americana de saúde – Doenças crônico degenerativas e obesidade estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividades físicas e saúde – 2006, Brasília.

Organização Mundial da Saúde. OMS. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva: World Health Organization. 2009.

Pappas P et al. Health policy strategies for the treatment of obesity: a systematic review. *Int J Caring Sci.* 2010; 3(3): 98-105.

Pesquisa de Orçamentos familiares- POF 2008-2009. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

Prado, L.W. et al. Obesidade e Adipocinas Inflamatórias: Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício. *Rev Bras Med Esporte* –2009. 75(2):572 -24.

RipamintiI, U. et al. Periodontal tissue regeneration by combined applications of recombinant human osteogenic protein-1 and bone morphogenetic protein-2. A pilot study in Chacma baboons (*Papio ursinus*), *European Journal of Oral Sciences*, Copenhagen. 2001 241-248.

Ruth JH. et al. CXCL16- mediated cell recruitment to rheumatoid arthritis synovial tissue and murine lymph nodes is dependent upon the MAPK pathway. *Arthritis Rheum* 2006. 54: 765–778.

Sheikine Y, Bang CS, Nilsson L, Samnegard A, Hamsten A, et al. Decreased plasma CXCL16/SR-PSOX concentration is associated with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2008. 34:567-342.

Shicieri e Souza – Estratégia para a prevenção de obesidade em crianças e adolescente – Caderno de saúde publica – Rio de janeiro 2008.

Silveira, A.E., et. al. Prevalência e fatores associados à obesidade em idosos residentes em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: classificação da obesidade segundo dois pontos de corte do índice de massa corporal. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2010. 25(7):1569-1577.

Stofkova A et al; Resistin and visfatin: Regulators of insulin sensitivity, inflammation and immunity; *Endocrine Regulations*, 2010; doi:10.4149.

Sweeney, G et al. Cardiovascular effects of leptin. *Nature Rev Cardiol*. 2010. 24(3):1237-32.

Talvani A, et al. Elevated concentrations of CCL2 and tumor necrosis factor- α in chagasic cardiomyopathy. *Clin. Infect. Dis*. 2004. 38, 943-950.

Terres et al. Prevalência e fatores associados ao sobrepeso e à obesidade em adolescentes. *Rev. Saúd. Públ.* 2006; 40:627-33.

Tilg H et al. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and Immunity. *Nature Publishing Group*. 2006;6:772-83.

Trayhurn P, et al. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2008. 92(3):347-55.

Virtanen K et al. Functional Brown Adipose Tissue in Healthy Adults. *N Engl J Med.* 2009; 360:1518-25.

Volp, ACP et al. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica: Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2008, 537-549.

WHO - World Health Organization. Physical Status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: Technical Report Series, 2010.

Wisse B. An Integrative View of Obesity. *Science.* 2005; 318:928-9.

Woney, JM et al. The Bone Morphogenetic Protein Family and Osteogenesis. *Molecular Reproductive and Development*, New York, 2005.160-167.

Wright JF, Bennett F, Li B, Brooks J, Luxenberg DP, Whitters MJ, Tomkinson KN, Fitz LJ, Wolfman NM, Collins M, Dunussi-Joannopoulos K, Chatterjee-Kishore M, Carreno BM. (2008) The human IL-17F/IL-17A heterodimeric cytokine signals through the IL-17RA/IL-17RC receptor complex. *J Immunol*;181(4):2799-805.

Yongqing Lv a,b,c, Xiaoyang Hou a,b, et al. Associations of CXCL16/CXCR6 with carotid atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. 2013. *Clinical Nutrition* 32 (2013) 849e854.

9.0 – Anexo



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone (31) 3559 -1368 Fax: (31) 3559-1370



OFÍCIO CEP Nº. 196/2012, de 21 de dezembro de 2012.

Ilmo Sr.

Prof. Dr. Andre Talvani Pedrosa da Silva

DECBI/ICEB/UFOP

Senhor Pesquisador,

É com prazer que comunicamos a **Aprovação**, pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Ouro Preto, de seu projeto intitulado "Avaliação de biomarcadores inflamatórios em indivíduos adultos com sobrepeso e obesidade" (CAAE: 07639512.0.0000.5150).

Atenciosamente,

Profa. Dra. Olívia Maria de Paula Alves Bezerra
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa
Universidade Federal de Ouro Preto