

Rafael Machado Mantovani

**OBESIDADE NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA:  
Evidência da associação entre o fator de inibição da  
ativação do plasminogênio-1 e adiposidade visceral.**

Belo Horizonte  
Faculdade de Medicina da UFMG  
2008

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

# **OBESIDADE NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA:**

## **Evidência da associação entre o fator de inibição da ativação do plasminogênio-1 e adiposidade visceral.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde - Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente.

Linha de Pesquisa: Obesidade

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Ana Cristina Simões e Silva

Belo Horizonte  
Faculdade de Medicina da UFMG  
2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**FACULDADE DE MEDICINA**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente**

---

Mantovani, Rafael Machado

Obesidade na infância e adolescência: evidência da associação entre o fator de inibição da ativação do plasminogênio-1 e adiposidade visceral / Rafael Machado Mantovani. – Belo Horizonte: UFMG, 2008.

93 f.:il.

Orientadora: Ana Cristina Simões e Silva

**1**

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente) - Programa de Pós Graduação da Faculdade de Medicina, UFMG.

1. Fator de inibição da ativação do plasminogênio-1. 2. Leptina.  
3. Obesidade. 4. Tecido Adiposo. 5. Resistência à Insulina I. Simões e Silva, AC. II. Universidade Federal de Minas Gerais. III. Tit.

---

**Belo Horizonte, 2008**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**  
**Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente**

Reitor: Prof. Ronaldo Tadêu Pena

Vice-Reitora: Profa. Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Jaime Arturo Ramirez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: João Lúcio dos Santos Jr.

Chefe do Departamento de Pediatria: Profa. Maria Aparecida Martins

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente: Prof. Joel Alves Lamounier

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Medicina - Área de Concentração em Pediatria: Prof. Eduardo Araújo de Oliveira

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente:

Prof. Joel Alves Lamounier

Prof. Eduardo Araújo de Oliveira

Prof<sup>a</sup> Ana Cristina Simões e Silva

Prof. Francisco José Penna

Prof<sup>a</sup> Ivani Novato Silva

Prof. Lincoln Marcelo Silveira Freire

Prof. Marco Antônio Duarte

Prof<sup>a</sup> Regina Lunardi Rocha

Ludmila Teixeira Fazito (Rep. Disc. Titular)

Dorotêa Starling Malheiros (Rep. Disc. Suplente)

À minha amada Camila.

## **Agradecimentos**

Agradeço:

Aos meus queridos pais, que me ensinaram o valor da educação e do conhecimento. Pai, obrigado pelo carinho e incentivo, sempre. Mãe, seu exemplo de vida e de luta é inspirador;

À minha amada Camila, por estar presente em todos os momentos, por seu otimismo e amor incondicional. Ao Francisco, minha alegria e razão de viver;

À Professora Ana Cristina, pela dedicação e compromisso na orientação deste trabalho, pelos ensinamentos e confiança;

Ao meu irmão, Lucas, amigo e grande incentivador;

Ao amigo Dalmo, por todos os “galhos quebrados”!

À Professora Juni, tão interessada pelas questões da pesquisa, por ter contribuído tanto. Obrigado pelo carinho, ensinamentos e por todas as oportunidades a mim oferecidas;

Aos mestres Ivani, Chagas, Vera, Sarah, Cristiane, Jesús, Maite e Pozo, que tanto contribuíram para a minha formação profissional;

Às alunas de iniciação científica Letícia, Juliana e Flávia, pela disponibilidade e eficiência no trabalho realizado. A participação de vocês foi fundamental;

Aos funcionários do Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFMG, em especial Manoel e Boni, pela grande ajuda na coleta das amostras;

Às crianças e aos adolescentes que participaram do estudo;

Por fim, a todas as pessoas que, de uma forma ou de outra, participaram desta caminhada.

Obrigado!

MANTOVANI, RM. *Obesidade na infância e adolescência: Evidência da associação entre o fator de inibição da ativação do plasminogênio-1 e adiposidade visceral*. Belo Horizonte, 2008. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

## RESUMO

**Introdução:** O acúmulo de tecido adiposo está associado a um estado de inflamação crônica e a distúrbios da função endotelial e fibrinolítica. No entanto, ainda não se comprovaram na infância as inter-relações entre os níveis circulantes do fator inibidor da ativação do plasminogênio-1 (PAI-1) e os componentes da síndrome metabólica, adipocinas e marcadores de inflamação, já bem estabelecidas em pacientes adultos.

**Objetivo:** Estudar as variáveis clínicas e metabólicas associadas aos níveis circulantes do PAI-1 em crianças e adolescentes obesos.

**Pacientes e métodos:** Participaram deste estudo 86 crianças e adolescentes com idade média de  $10,7 \pm 2,8$  anos, 42 meninos (49%), divididos em dois grupos, de acordo com o percentil do índice de massa corporal (IMC): obesos (n=61) e controles (n=25). Os pacientes foram ainda divididos em 3 grupos, conforme seu estágio puberal: pré-púberes (n=22), puberdade inicial (n=39) e puberdade tardia (n=25). Além dos dados antropométricos, coletaram-se amostras de sangue para a determinação dos níveis de PAI-1, leptina e marcadores bioquímicos da síndrome metabólica.

**Resultados:** O grupo de obesos apresentou valores significativamente maiores de escore-z de IMC, circunferência abdominal (CA) / estatura, pressão arterial, insulina, HOMA-IR, triglicérides, leptina e PAI-1, em comparação ao grupo controle ( $p < 0,05$  para todas as comparações). Na análise univariada, as categorias de PAI-1 apresentaram diferenças significativas entre os grupos de obesos e controles ( $p = 0,035$ ) e para as variáveis escore-z de IMC, CA / estatura, leptina, glicose, HOMA-IR, progressão puberal e triglicérides ( $p < 0,05$  para todas). No entanto, a análise de regressão multivariada mostrou que apenas a progressão puberal ( $p = 0,005$ ) e a relação CA / estatura ( $p = 0,002$ ) permaneceram como preditores independentes dos níveis de PAI-1.

**Conclusões:** Na infância e adolescência, os níveis de PAI-1 estão associados com o acúmulo de tecido adiposo (principalmente visceral) e com a progressão puberal.

**Palavras-chave:** Fator de inibição da ativação do plasminogênio-1. Leptina. Obesidade. Tecido Adiposo. Resistência à Insulina.

MANTOVANI, RM. *Childhood obesity: Evidence for association between plasminogen activator inhibitor-1 levels and visceral adiposity*. Belo Horizonte, 2008. 93 p. MSc Thesis (Mestrado em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais.

## ABSTRACT

**Introduction:** Fat mass excess is associated to a systemic low-grade inflammatory state and dysfunction of endothelial and fibrinolytic systems. However, there is a lack of data as to whether interactions of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), metabolic and clinical variables and adipokines are present in childhood obesity.

**Objective:** To study selected factors associated to the circulating levels of PAI-1 in obese children and adolescents.

**Study design:** This is a cross-sectional study of 86 children and adolescents with mean age of  $10.7 \pm 2.8$  years, 42 male (49%), divided in two groups, according to body mass index (BMI): obese (n=61) and controls (n=25). Subjects were also allocated into three pubertal status groups: pre-pubertal (n=22), early-puberty (n=39) and late-puberty (n=25). Besides anthropometric data, blood samples were collected for measurement of PAI-1, leptin and biochemical markers of metabolic syndrome.

**Results:** Obese group presented significant higher BMI z-score, abdominal circumference (AC)/height, blood pressure, insulin levels, HOMA-IR, triglycerides, leptin and PAI-1 in comparison to control group ( $p < 0.05$  for all comparisons). In the univariate analysis, PAI-1 categories presented significant differences between obese and control groups ( $p = 0.035$ ) and for the variables BMI z-score, AC/height, leptin, glucose, HOMA-IR, pubertal progression and triglycerides ( $p < 0.05$  for all). However, multivariate regression analysis showed that only puberty progression ( $p = 0.005$ ) and AC/height index ( $p = 0.002$ ) remained as independent predictors of PAI-1 levels.

**Conclusion(s):** In childhood and adolescence, PAI-1 levels are associated with fat mass accumulation (mainly visceral fat) and with puberty progression.

**Key-words:** Plasminogen Activator Inhibitor-1. Leptin. Obesity. Adipose Tissue. Insulin Resistance.

## Lista de Tabelas

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>TABLE 1.</b> Clinical and laboratorial characteristics in both study groups (obese and controls).....              | 74 |
| <b>TABLE 2.</b> Laboratory data for obese and control groups, according to Tanner puberty stage.....                  | 75 |
| <b>TABLE 3.</b> Univariate analysis: association between PAI-1 and clinical and laboratorial<br>characteristics. .... | 76 |
| <b>TABLE 4.</b> Multivariate analysis: association of PAI-1 and other characteristics. ....                           | 77 |

## Lista de Figuras

- FIGURA 1.** Representação esquemática do sistema fibrinolítico (adaptado de Lijnen & Collen [17]). t-PA: fator ativador do plasminogênio tipo tecidual; u-PA: fator ativador do plasminogênio tipo uroquinase; PAI: fator inibidor da ativação do plasminogênio. .... 15
- FIGURA 2.** Comparação das curvas de IMC para idade, de 0 a 5 anos, da OMS (WHO) e CDC 2000. As curvas da OMS são mais baixas que as do CDC 2000, aumentando a identificação de crianças obesas. Por outro lado, podem subestimar os casos de desnutrição..... 30

## **Lista de abreviaturas e siglas (em ordem alfabética)**

ADA – American Diabetes Association

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

COEP – Comitê de Ética em Pesquisa

DEXA – Densitometria computadorizada por absorvometria radiológica de dupla energia

DP – Desvio-padrão

ELISA – Técnica de ensaio imunoenzimático

HOMA-IR – Modelo homeostático de avaliação da resistência à insulina

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IL-1 $\beta$  – interleucina-1 $\beta$

IMC – Índice de massa corporal

LHFF – Laboratório de Hematologia da Faculdade de Farmácia

LPPG – Laboratório de Pesquisa da Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente

NCHS - National Center for Health Statistics

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAI-1 – Fator inibidor da ativação do plasminogênio-1

SCV – Sistema cardiovascular

sICAM-1 – Molécula de adesão intercelular solúvel-1

SNC – Sistema nervoso central

TGF- $\beta$  – fator de crescimento e transformação- $\beta$

TNF- $\alpha$  – fator de necrose tumoral- $\alpha$

t-PA – Fator ativador do plasminogênio tipo tecidual

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

u-PA – Fator ativador do plasminogênio tipo uroquinase

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                                                   | <b>13</b> |
| 1.1 FATOR INIBIDOR DA ATIVAÇÃO DO PLASMINOGÊNIO-1 (PAI-1).....                                                                           | 14        |
| 1.2 LEPTINA .....                                                                                                                        | 16        |
| 1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                     | 20        |
| <b>2 REVISÃO DA LITERATURA.....</b>                                                                                                      | <b>24</b> |
| <b>OBESIDADE NA INFÂNCIA E ADOLESCÊNCIA .....</b>                                                                                        | <b>24</b> |
| 2.1 INTRODUÇÃO .....                                                                                                                     | 24        |
| 2.2 CONCEITO E PREVALÊNCIA.....                                                                                                          | 25        |
| 2.3 COMO SE ESTIMAR A MASSA ADIPOSITIVA.....                                                                                             | 27        |
| 2.4 ETIOLOGIA DA OBESIDADE INFANTIL .....                                                                                                | 30        |
| 2.5 O TECIDO ADIPOSITIVO COMO ÓRGÃO ENDÓCRINO .....                                                                                      | 33        |
| 2.6 CONSEQUÊNCIAS DA OBESIDADE INFANTIL .....                                                                                            | 33        |
| 2.7 AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL .....                                                                                                 | 34        |
| 2.8 TRATAMENTO.....                                                                                                                      | 37        |
| 2.9 CONCLUSÃO .....                                                                                                                      | 44        |
| 2.10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                    | 45        |
| <b>3 OBJETIVOS .....</b>                                                                                                                 | <b>50</b> |
| 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                                                                          | 50        |
| <b>4 PACIENTES E MÉTODOS .....</b>                                                                                                       | <b>51</b> |
| 4.1 PACIENTES .....                                                                                                                      | 51        |
| 4.1.1 Critérios de exclusão .....                                                                                                        | 51        |
| 4.1.2 Aspectos Éticos .....                                                                                                              | 51        |
| 4.2 MÉTODOS.....                                                                                                                         | 52        |
| 4.2.1 Protocolo do estudo.....                                                                                                           | 52        |
| 4.2.2 Coleta e Processamento de Amostras .....                                                                                           | 55        |
| 4.2.3 Ensaios Imunoenzimáticos.....                                                                                                      | 55        |
| 4.2.4 Análise Estatística .....                                                                                                          | 56        |
| 4.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                     | 56        |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                                                                     | <b>58</b> |
| <b>CHILDHOOD OBESITY: EVIDENCE FOR ASSOCIATION BETWEEN PLASMINOGEN ACTIVATOR<br/>INHIBITOR-1 LEVELS AND VISCERAL ADIPOSITIVITY .....</b> | <b>58</b> |
| 5.1 INTRODUCTION .....                                                                                                                   | 58        |
| 5.2 SUBJECTS AND METHODS .....                                                                                                           | 59        |
| 5.2.1 Inclusion criteria .....                                                                                                           | 59        |
| 5.2.2 Exclusion criteria .....                                                                                                           | 60        |
| 5.2.3 Ethical aspects.....                                                                                                               | 60        |
| 5.2.4 Study protocol.....                                                                                                                | 60        |
| 5.3 LABORATORIAL ANALYSIS .....                                                                                                          | 61        |
| 5.3.1 Statistical analysis .....                                                                                                         | 62        |
| 5.4 RESULTS.....                                                                                                                         | 63        |
| 5.4.1 Comparison between obese and controls.....                                                                                         | 63        |
| 5.4.2 Comparison between genders in obese and controls .....                                                                             | 63        |
| 5.4.3 Puberty progression.....                                                                                                           | 64        |
| 5.4.4 Associations between PAI-1 and metabolic syndrome components.....                                                                  | 64        |
| 5.5 DISCUSSION.....                                                                                                                      | 65        |
| 5.6 REFERENCES.....                                                                                                                      | 68        |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>                                                                                                       | <b>78</b> |
| 6.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                     | 83        |
| <b>7 ANEXOS .....</b>                                                                                                                    | <b>87</b> |

## INTRODUÇÃO

Atualmente, a obesidade apresenta-se como um dos problemas mais graves de saúde pública, tanto na vida adulta quanto na infância e na adolescência. Devido ao crescimento acentuado de sua prevalência nas últimas décadas, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma epidemia global (1). Além disso, crianças obesas freqüentemente se tornam adolescentes e adultos obesos com sérios riscos para a saúde (2).

Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2002-2003 (3) detectaram um aumento considerável na proporção dos adolescentes brasileiros com excesso de peso: em 1974-75, estavam acima do peso 3,9% dos meninos e 7,5% das meninas entre 10 e 19 anos; já em 2002-03, os percentuais encontrados foram 18,0% e 15,4%, respectivamente.

A obesidade está fortemente associada à hipertensão arterial, dislipidemia, intolerância à glicose e marcadores de inflamação crônica, levando a um aumento de fatores de risco cardiovascular, piora do estilo de vida, e aumento do índice de mortalidade no adulto (4). Diversos estudos têm mostrado relação direta entre o grau de obesidade e a prevalência da síndrome metabólica (5-7). Sendo assim, o aumento no grau de obesidade tem impacto negativo sobre os níveis da glicemia em jejum, a tolerância à glicose, a sensibilidade insulínica, a pressão arterial sistólica, os níveis séricos de triglicérides e o surgimento de microalbuminúria (6).

Embora sem manifestações clínicas na infância, alterações do perfil lipídico podem aparecer já essa faixa etária em indivíduos obesos, produzindo aceleração do processo aterogênico (6). Dessa forma, a obesidade na infância já está relacionada com o espessamento da camada íntima-média das artérias carótidas, processo reversível com mudanças no estilo de vida e dieta (8).

Desde 1994, ano da descoberta da leptina, o tecido adiposo deixou de ser considerado apenas como um reservatório passivo de energia, passando, então, a assumir o papel de órgão endócrino (9,10). Recentemente, inúmeras citocinas e mediadores da resposta inflamatória têm sido relacionados à presença de obesidade (10-12). Além da secreção de ácidos graxos livres, o tecido adiposo expressa e secreta vários peptídeos bioativos, as chamadas adipocinas, atuantes tanto no nível local (ação parácrina/autócrina) quanto no sistêmico (ação endócrina) (10). Tais substâncias desempenham diversas funções metabólicas, como a regulação do acúmulo e gasto energético, a regulação do metabolismo de glicose e lípidos, além de efeitos imunológicos anti- e pró-inflamatórios (7,10). O tecido adiposo contém ainda uma complexa maquinaria metabólica, capaz de interagir com diversos órgãos e sistemas à distância, tais como o sistema nervoso central (SNC), o sistema cardiovascular (SCV) e os rins (10,12,13).

Recentemente, outras substâncias, como as citocinas pró-inflamatórias, os fatores do complemento e componentes da cascata da coagulação e fibrinólise, têm ganhado destaque como participantes desse contexto, mediando complicações metabólicas e cardiovasculares associadas à obesidade (12).

A seguir, serão brevemente revisados o papel do fator de inibição da ativação do plasminogênio-1 e da leptina na obesidade.

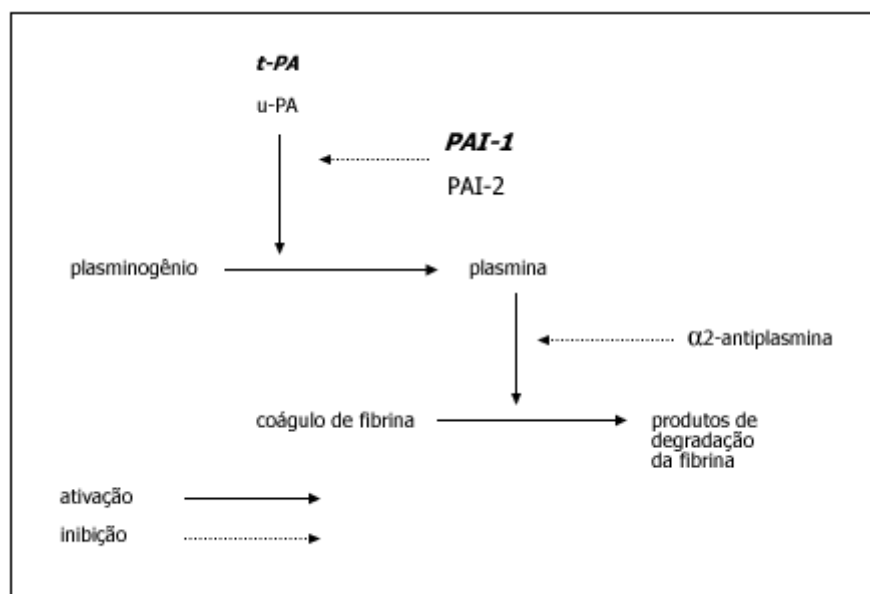
### ***1.1 Fator de inibição da ativação do plasminogênio-1 (PAI-1)***

A obesidade participa do desenvolvimento de doenças cardiovasculares por meio de vários mecanismos de vasculopatia, como aterosclerose, hipercolesterolemia, hipercoagulabilidade, disfunção plaquetária, resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2 (14). Tais componentes apresentam-se interligados a uma “rede” de comorbidades, com vários fatores circulantes atuando como mediadores dessa conexão, que culmina, invariavelmente, em um estado de inflamação sistêmica e de disfunção endotelial. Estes

fenômenos estão, por sua vez, envolvidos nos estágios mais precoce do processo aterosclerótico e da morbimortalidade cardiovascular (15).

O desenvolvimento de doenças cardiovasculares resulta da formação de placas ateromatosas, um processo que progride durante toda a vida de um indivíduo. A fase aguda de uma doença cardiovascular relaciona-se à ruptura dessas placas, com a formação de trombos, eventos intimamente ligados aos estados de hipercoagulabilidade e hipofibrinólise (16).

O sistema fibrinolítico é responsável pela degradação da fibrina nos vasos sanguíneos, processo mediado pela enzima plasmina, a qual circula no sangue sob a forma de proenzima, o plasminogênio (figura 1). Dois ativadores do plasminogênio atuam nesse processo: o ativador do plasminogênio tipo tecidual (t-PA) e o tipo uroquinase (u-PA). A inibição do sistema fibrinolítico pode ocorrer nesse nível, principalmente pelo PAI-1, ou, no nível da plasmina, pela  $\alpha$ -2 antiplasmina (figura 1).



**Figura 1.** Representação esquemática do sistema fibrinolítico (adaptado de Lijnen & Collen [17]). t-PA: fator ativador do plasminogênio tipo tecidual; u-PA: fator ativador do plasminogênio tipo uroquinase; PAI: fator inibidor da ativação do plasminogênio.

O PAI-1 é secretado por diversos tipos celulares, dentre os quais o endotélio, as células musculares lisas da vasculatura, os hepatócitos, as plaquetas e os adipócitos (16). São

vários os sinais que controlam a secreção desse fator, o que pode justificar sua diferente produção pelos tecidos adiposos abdominal e subcutâneo. A secreção de PAI-1 pelos adipócitos é influenciada por um grande número de citocinas, hormônios e fatores de crescimento, como o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (18), interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), glicocorticóides, insulina, leptina e o fator de transformação e crescimento- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (19-22). Em adultos, PAI-1 apresenta ainda uma correlação positiva com os níveis de triglicérides, colesterol LDL e VLDL e com a lipoproteína a (16).

Nos últimos anos, vários estudos demonstraram o importante papel do PAI-1 como fator de risco cardiovascular em adultos, principalmente por sua íntima e forte relação com os componentes da síndrome de resistência à insulina (23). O excesso de tecido adiposo (principalmente visceral), por sua vez, relaciona-se a altos níveis desse peptídeo (16).

Estudos em crianças e adolescentes obesas envolvendo a avaliação dos níveis de PAI-1 e sua correlação com dados clínicos e com outros marcadores de inflamação são escassos. As interações do PAI-1 com leptina, insulina e adiposidade visceral, presentes nos adultos, ainda não foram bem estabelecidas na faixa etária pediátrica.

## **1.2 Leptina**

A leptina (do grego *leptos*, que significa magro), cujo gene foi descoberto em 1994 (10), é secretada pelos adipócitos em proporção à quantidade de tecido adiposo (principalmente subcutâneo), assim como ao estado nutricional (24). Dessa forma, os níveis de leptina são elevados nos indivíduos obesos e aumentam quando há uma alimentação excessiva. Seus receptores, descobertos em 1995 e 1996, são membros da superfamília de receptores de citocinas da classe I e são expressos tanto no SNC quanto nos tecidos periféricos (25).

A regulação da expressão e secreção de leptina é feita por uma seqüência metabólica que envolve vários fatores. Substâncias como glicocorticóides e citocinas inflamatórias aumentam os níveis de leptina. Em contraste, a exposição ao frio, a estimulação adrenérgica, o hormônio de crescimento, os andrógenos, os ácidos graxos livres, os hormônios tireoidianos, a melatonina, o fumo e as tiazolidinedionas diminuem os seus níveis (26).

A leptina tem uma participação ativa no processo de homeostase, principalmente no que se refere ao armazenamento e gasto de energia, mediados por vias hipotalâmicas, que inculam outros neuro-transmissores, como o neuropeptídeo Y e a proopiomelanocortina. Outras funções são mediadas diretamente por vias periféricas, como o tecido muscular e as células  $\beta$ -pancreáticas (25). Seu principal papel é servir como um sinal de “suficiência” de energia, através da diminuição do apetite e do aumento do gasto energético. Além disso, tem outras atuações, como a regulação do metabolismo neuro-endócrino, da função imunológica, da hematopoiese, da angiogênese e do desenvolvimento ósseo (10).

Nos últimos anos, evidências sugerem que, nos indivíduos obesos, a exposição crônica a altas concentrações de leptina é devida a uma resistência aos seus efeitos (27), apesar de poucos trabalhos terem apresentado defeitos genéticos do receptor de leptina (28). Mecanismos potenciais incluiriam um defeito de transporte ou sinalização nos alvos do SNC (12).

Apesar dos níveis de leptina em adultos não se associarem a mudanças futuras no tecido adiposo, em crianças já se comprovou o papel dessa adipocina como preditor de ganho futuro de massa adiposa, nos pacientes com risco de obesidade na vida adulta (crianças obesas e/ou com pais obesos) (29).

Embora vários hormônios derivados do tecido adiposo tenham sido identificados, ainda não se sabe qual a aplicabilidade prática da mensuração de seus níveis circulantes. No entanto, o estudo dessas substâncias pode proporcionar um caminho promissor no que se refere ao tratamento da obesidade e suas complicações.

Nesse contexto, novos estudos envolvendo as adipocinas, seus receptores e os genes responsáveis pela sua expressão são de fundamental importância para compreender o funcionamento do tecido adiposo e a fisiopatologia da obesidade. Sendo assim, será possível avaliar as funções do tecido adiposo e sua relação com a homeostase e o balanço de energia, além de outros sistemas fisiológicos, dentre os quais, o sistema fibrinolítico. Enfim, o entendimento do tecido adiposo como órgão endócrino pode permitir abordagens terapêuticas eficazes sobre as consequências metabólicas tanto da deficiência como do excesso de gordura.

Levando-se em consideração esses aspectos, aliados à extensão das complicações ocasionadas pela obesidade infantil, cada vez mais prevalente, a proposta deste trabalho é apresentar as possíveis inter-relações existentes entre PAI-1 (um dos componentes do processo fibrinolítico), a adiposidade visceral, os componentes da síndrome metabólica e os níveis de leptina, em crianças e adolescentes.

Uma vez determinadas essas relações, abrem-se novas perspectivas em relação à prevenção e ao tratamento das complicações relacionadas à obesidade, seja na infância ou na idade adulta.

Por fim, é importante explicar que essa dissertação de Mestrado foi elaborada conforme o modelo aprovado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Saúde da Criança e do Adolescente (Faculdade de Medicina- UFMG), que permite sua elaboração em formato de artigos científicos para submissão a periódicos médicos. Sendo assim, a apresentação deste trabalho seguiu a seguinte estrutura:

1. Seção de Introdução;
2. Seção de Revisão da Literatura, apresentada sob a forma do artigo: *Obesidade na Infância e Adolescência* (artigo publicado no periódico Revista Médica de Minas Gerais);
3. Seção de Objetivos;
4. Seção de Metodologia;
5. Seção de Resultados e Discussão, apresentada sob a forma do artigo: *Childhood obesity: Evidence for association between plasminogen activator inhibitor-1 levels and visceral adiposity* (artigo a ser submetido ao periódico *Journal of Pediatrics*);
6. Seção de Considerações Finais.

Observações:

As referências bibliográficas estão dispostas ao final de cada artigo ou seção. As referências dos artigos seguem as normas de cada periódico específico para o qual o mesmo foi ou será submetido. As referências listadas no final de cada seção estão dispostas em ordem de citação e seguem as normas de Vancouver.

### ***1.3 Referências Bibliográficas***

1. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. Technical Report Series 894. Geneva, 2000.
2. Guo SS, Wu W, Chumlea WC, Roche AF. Predicting overweight and obesity in adulthood from body mass index values in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr.* 2002 Sep;76(3):653-8.
3. IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Antropometria e análise do estado nutricional de crianças e adolescentes no Brasil. Rio de Janeiro, 2006.
4. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults – The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obes Res.* 1998 Nov;6(6):461-2.
5. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CW, *et al.* Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med.* 2004 Jun 3;350(23):2362-74.
6. Speiser PW, Rudolf MC, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, *et al.* Childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Mar;90(3):1871-87.
7. Grundy SM, Brewer HB Jr, Cleeman JJ, Smith SC Jr, Lenfant C; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Feb;24(2):e13-8.
8. Reinehr T, Kiess W, de Sousa G, Stoffel-Wagner B, Wunsch R. Intima media thickness in childhood obesity: relations to inflammatory marker, glucose metabolism, and blood pressure. *Metabolism.* 2006 Jan;55(1):113-8.

9. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994 Dec 1;372(6505):425-32.
10. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2548-56.
11. Sbarbati A, Osculati F, Silvagni D, Benati D, Galiè M, Camoglio FS, *et al*. Obesity and inflammation: evidence for an elementary lesion. *Pediatrics*. 2006 Jan;117(1):220-3.
12. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab*. 2000 Oct;11(8):327-32.
13. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001 Jun;280(6):E827-47.
14. Sowers JR. Obesity as a cardiovascular risk factor. *Am J Med*. 2003 Dec 8;115 Suppl 8A:37S-41S.
15. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2005 May 13;96(9):939-49.
16. Mertens I, Van Gaal LF. Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system. *Obes Rev*. 2002 May;3(2):85-101.
17. Lijnen HR, Collen D. Mechanisms of physiological fibrinolysis. *Baillieres Clin Haematol*. 1995 Jun;8(2):277-90.
18. Cigolini M, Tonoli M, Borgato L, Frigotto L, Manzato F, Zeminian S, *et al*. Expression of plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue: a role for TNF-alpha? *Atherosclerosis*. 1999 Mar;143(1):81-90.

19. Birgel M, Gottschling-Zeller H, Röhrig K, Hauner H. Role of cytokines in the regulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in newly differentiated subcutaneous human adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Jun;20(6):1682-7.
20. Halleux CM, Declerck PJ, Tran SL, Detry R, Brichard SM. Hormonal control of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and production in human adipose tissue: stimulation by glucocorticoids and inhibition by catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Nov;84(11):4097-105.
21. De Mitrio V, De Pergola G, Vettor R, Marino R, Sciaraffia M, Pagano C, et al. Plasma plasminogen activator inhibitor-I is associated with plasma leptin irrespective of body mass index, body fat mass, and plasma insulin and metabolic parameters in premenopausal women. *Metabolism.* 1999 Aug;48(8):960-4.
22. Söderberg S, Olsson T, Eliasson M, Johnson O, Åhrén B. Plasma leptin levels are associated with abnormal fibrinolysis in men and postmenopausal women. *J Intern Med.* 1999 May;245(5):533-43.
23. Beltowski J. Leptin and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2006 Nov;189(1):47-60.
24. 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 May;145(5):2273-82.
25. Bjorbaek C, Kahn BB. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog Horm Res.* 2004;59:305-31.
26. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002 Nov;26(11):1407-33.

27. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996 Feb 1;334(5):292-5.
28. Echwald SM, Sørensen TD, Sørensen TI, Tybjaerg-Hansen A, Andersen T, Chung WK, et al. Amino acid variants in the human leptin receptor: lack of association to juvenile onset obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997 Apr 7;233(1):248-52.
29. Fleisch AF, Agarwal N, Roberts MD, Han JC, Theim KR, Vexler A, et al. Influence of serum leptin on weight and body fat growth in children at high risk for adult obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Mar;92(3):948-54.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

### **Obesidade na Infância e Adolescência<sup>1</sup>**

#### ***2.1 Introdução***

Atualmente, a obesidade é um dos problemas mais graves de saúde pública, tanto na vida adulta quanto na infância e na adolescência. Devido ao crescimento acentuado de sua prevalência nas últimas décadas, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma epidemia global (1). Além disso, crianças obesas frequentemente se tornam adolescentes e adultos obesos com sérios riscos para a saúde (2).

É necessário entender a natureza desse problema, suas causas e implicações, não apenas no que se refere aos cuidados pediátricos, mas sua progressão para a vida adulta. Há evidências de que a prevenção da obesidade infantil se inicia no pré-natal (3). A nutrição materna, as condições de nutrição intra-uterina e o peso de nascimento (4) têm sido associados ao acúmulo de tecido adiposo na infância, principalmente se houver oferta calórica excessiva, como o aleitamento artificial inadequado.

Neste contexto, é de grande importância para prevenção da obesidade infantil, promover um ambiente saudável, tanto domiciliar como escolar, com opções de recreação e psicologicamente propício a atividades físicas.

---

<sup>1</sup> Este capítulo foi publicado anteriormente no periódico Revista Médica de Minas Gerais (Ver Anexo III)

## **2.2 Conceito e prevalência**

A obesidade pode ser conceituada como um acúmulo corporal de tecido adiposo, por um balanço energético positivo, geralmente devido à ingestão calórica excessiva, associada ao gasto insuficiente de energia.

A Força-tarefa Internacional para Obesidade (*International Obesity Task Force*), em 1994, concluiu que o índice de massa corporal (IMC) oferece uma medida razoável para avaliação de obesidade em crianças e adolescentes (5). Estipularam-se como referências os respectivos valores de IMC de adultos, de 25 e 30 Kg/m<sup>2</sup>, como graus 1 e 2 de obesidade, relacionando-os aos valores dos percentis 85 e 95 para idade e sexo na faixa etária pediátrica (5).

A categoria “sobrepeso” tem como objetivo identificar crianças e adolescentes que devem ser referenciados à triagem para possíveis complicações secundárias (6). Não é rara a identificação de crianças com percentil de IMC entre 85 e 95 com graus variados de dislipidemia ou hipertensão arterial sistêmica.

Já os adolescentes obesos, com percentil de IMC maior que 95 para sexo e idade, além das possíveis consequências imediatas secundárias ao excesso de peso, como baixa auto-estima, alterações do metabolismo glicêmico, hipertensão, entre outras, são fortes candidatos à obesidade na vida adulta (2).

Dados recentes mostram um aumento alarmante da prevalência da obesidade em todo o mundo. Estima-se que cerca de 7% da população mundial está obesa e 15 a 20% com sobrepeso (7). Nos Estados Unidos (EUA), um estudo publicado em 2004 mostrou uma prevalência de obesos de 10,3% em crianças de 2 a 5 anos e de 16% nas crianças de 6 a 19 anos. Somam-se ainda os casos de sobrepeso (IMC entre os percentis 85 e 95), com índices de

22,6% e 31%, respectivamente, com destaque para as populações afro- e hispano-americanas (8).

Dados do IBGE de 2002-2003 (9) detectaram um aumento considerável na proporção dos adolescentes brasileiros com excesso de peso: em 1974-75, estavam acima do peso 3,9% dos garotos e 7,5% das garotas entre 10 e 19 anos; já em 2002-03, os percentuais encontrados foram 18,0% e 15,4%, respectivamente. Um estudo realizado na cidade de Santos – SP (10) observou que em 10.822 crianças, de 7 a 10 anos, as prevalências totais de sobrepeso e obesidade foram de 15,7% e 18%, respectivamente. Em escolas privadas, a taxa de excesso de peso chegava a 50%, determinando a adoção de medidas de prevenção e intervencionismo.

Mesmo dentro de um mesmo país, a prevalência da obesidade pode variar entre grupos étnicos, como é o caso dos afro-americanos, nos EUA, também entre comunidades com diferentes níveis socioeconômicos e culturais. Estudos recentes mostraram que nos EUA, o baixo nível socioeconômico encontra-se mais relacionado à obesidade (11), enquanto que na China e Rússia, as crianças de maior risco são as de classe social mais alta (12). Os padrões de consumo, alimentação e atividade física são as razões determinantes para essa diferença. Nos países em desenvolvimento, as melhorias na qualidade de vida de algumas famílias muitas vezes levam os pais a oferecerem alimentos em abundância para seus filhos (6). De forma contrária, nos países desenvolvidos, as minorias étnicas e as famílias menos favorecidas geralmente têm restrição a opções de alimentos de boa qualidade e de instalações para a prática de atividade física.

Estudos mostram que moradores de áreas pobres nos EUA têm poucas opções de mercados com alimentos considerados mais saudáveis, como frutas, verduras e legumes, o que obviamente interfere no padrão alimentar desses consumidores. Por outro lado, a população com maior privilégio social, além de maior disponibilidade de alimentos de boa qualidade, tem maior acesso a informações relacionadas à saúde (6).

Independentemente de considerarmos populações e classes sociais como de maior ou menor risco de obesidade, os padrões atuais de vida da população em geral têm favorecido a prática de atividades sedentárias e o consumo de alimentos de alto poder calórico e baixo valor nutritivo. As lanchonetes e cantinas escolares são um exemplo da grande oferta desse tipo de alimento. Além disso, há ampla disponibilidade de máquinas de refrigerantes, doces e frituras em espaços públicos, mesmo em escolas com diretrizes nutricionais estabelecidas. Muitas escolas públicas brasileiras têm adotado, há anos, na sua merenda, cardápios com alimentos de alto conteúdo calórico, com o fim de suprir a demanda de populações carentes. No entanto, nota-se que essa medida tem contribuído consideravelmente para o aumento da prevalência da obesidade infantil, já que expõe as demais crianças e adolescentes a um conteúdo excessivo de calorias.

Propagandas de restaurantes de *fast food*, refrigerantes e alimentos industrializados, em programas infantis de televisão, telenovelas com público adolescente e em até revistas infanto-juvenis, aliadas à falta de uma legislação que possa coibir a exposição indiscriminada de crianças a esse tipo de informação são causas diretas do aumento da prevalência da obesidade na infância e adolescência. Somam-se ainda as propagandas sutilmente incluídas nos programas, incluídas nos conteúdos de programas de televisão, muitas vezes mais danosas do que as diretas.

### **2.3 Como se estimar a massa adiposa**

A complexidade de se estimar o grau de obesidade é tema de muitos estudos (7,13). Devido à grande dificuldade de quantificar a massa de tecido adiposo em crianças, tomando-se em conta, entre outros fatores, as diferenças populacionais e étnicas de composição corporal, não há uma definição universalmente aceita para a avaliação da gordura corporal.

Métodos como ressonância nuclear magnética (RNM) e densitometria computadorizada por absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA) são considerados os métodos com maior acurácia para quantificação da massa adiposa (7). Ainda assim, apresentam limitações. A DEXA, por exemplo, apesar de pouco invasiva, não distingue gordura subcutânea da visceral. Além disso, a utilização desses métodos de avaliação fica restrita ao meio acadêmico, em função de sua complexidade e alto custo.

O método de avaliação por bioimpedância elétrica é rápido, simples, de custo relativamente baixo e não-invasivo. No entanto, sofre interferência de diversos fatores, como a alimentação, grau de atividade física e do estado de hidratação que, por sua vez, pode ser alterado, por exemplo, pela fase do ciclo menstrual, presença de doença aguda e elevação da temperatura (7). Portanto, esse método apresenta baixa acurácia e reprodutibilidade, limitando o seu uso.

As medidas antropométricas constituem métodos baratos, reprodutíveis e pouco invasivos. Dentre eles, a circunferência abdominal é útil para identificar crianças obesas com maior risco metabólico (com maior quantidade de gordura visceral) (13). Dessa forma, tal medida deve ser incluída na avaliação de crianças e adolescentes com sobrepeso e obesidade. No entanto, referências pediátricas de curvas de circunferência abdominal ainda são escassas.

A medida de pregas cutâneas é um método útil para a avaliação da distribuição de gordura corporal, pois são tomadas medidas de várias partes do corpo. Como ponto negativo, têm de pouca reprodutibilidade, especialmente em pacientes muito obesos, mesmo após o treinamento técnico do examinador.

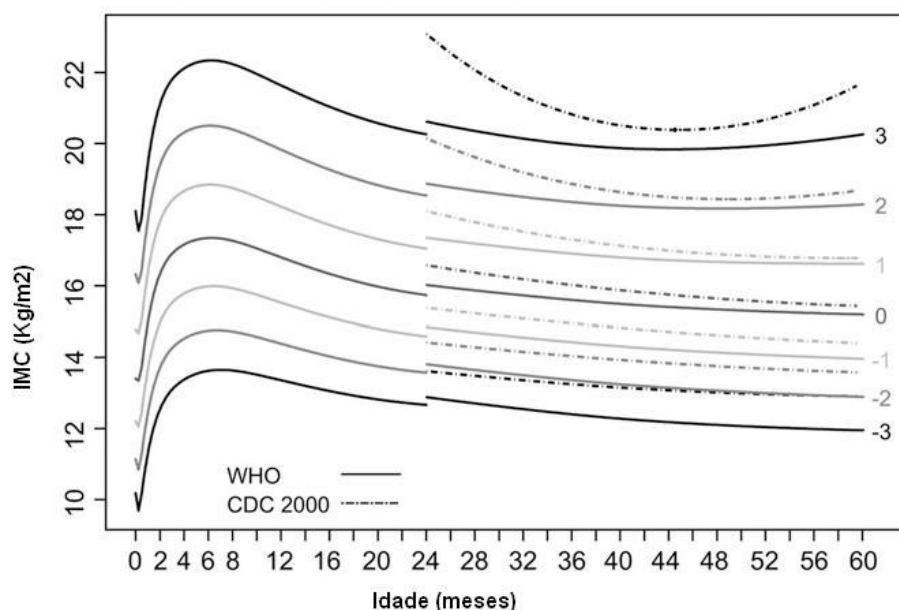
O cálculo do IMC é um método amplamente difundido na prática médica, sendo inclusive utilizado na definição de obesidade. No entanto, uma das preocupações ao considerá-lo como medida de gordura corpórea é a sobre-estimativa do sobrepeso, já que o método não constitui uma medida específica de gordura corpórea, sobretudo gordura visceral.

A correlação de valores de IMC com aspectos clínicos é de extrema importância, pois indivíduos com grande percentual de massa magra (músculos, ossos e líquidos corporais), como atletas e adultos jovens, podem apresentar-se com IMC elevado. De forma contrária, atenção deve ser dada aos pacientes classificados como eutróficos ou com leve sobrepeso, mas com grande acúmulo de gordura abdominal (13).

Em muitos países, curvas com dados de sua própria população são utilizadas para a avaliação de dados antropométricos. No Brasil, há muitos anos têm-se utilizado os dados do *National Center for Health Statistics*, dos Estados Unidos, como referência para avaliação de percentis de IMC para idade e sexo (CDC 2000).

Em 1997, a OMS iniciou um trabalho para o desenvolvimento de gráficos e curvas para a avaliação do crescimento, do estado nutricional e o desenvolvimento motor de crianças e adolescentes. O estudo, publicado em 2006 (14), contou com a participação de vários países, incluindo o Brasil (com apoio do Ministério da Saúde), Gana, Índia, Noruega, Oman e os Estados Unidos, de modo a representar as seis principais regiões geográficas do mundo. A característica mais marcante dessas curvas é o fato de terem sido construídas com crianças em aleitamento materno até os 4 meses e por terem como critérios de inclusão um conjunto de fatores que favorecem o pleno desenvolvimento de suas potencialidades de crescimento. Dessa forma, essas referências de percentis de IMC para idade e sexo (também disponíveis em desvios-padrão), de 0 a 18 anos, são consideradas mais adequadas para a população brasileira, permitindo uma melhor avaliação e classificação nutricional.

As curvas de IMC para idade da OMS se iniciam desde o nascimento, enquanto que as do CDC aos 2 anos de idade. Pelo reflexo da maior obesidade da população americana em relação à brasileira, as curvas do CDC tendem a subestimar o número de obesos brasileiros. As curvas da OMS, por outro lado, tendem a identificar mais fielmente o grau de obesidade da população brasileira, aumentando a estimativa de obesos (15) (figura 1).



**Figura 2.** Comparação das curvas de IMC para idade, de 0 a 5 anos, da OMS (WHO) e CDC 2000. As curvas da OMS são mais baixas que as do CDC 2000, aumentando a identificação de crianças obesas. Por outro lado, podem subestimar os casos de desnutrição.

## 2.4 Etiologia da Obesidade Infantil

Apesar de serem conhecidos mais de 600 genes e porções cromossômicas ligados à obesidade, os fatores genéticos são considerados raros como causa direta da obesidade infantil. Quando presentes, geralmente há o desenvolvimento de formas graves e precoces da doença.

Dos genes ligados diretamente ao desenvolvimento da obesidade, destacam-se os reguladores do metabolismo leptina-melanocortina, um complexo sistema regulador do apetite, envolvendo hormônios e neurotransmissores. Mutações no gene do receptor de melanocortina 4 (MCR4) são as causas monogênicas mais frequentes de obesidade, ocorrendo em até 4% das formas graves e de início precoce da doença na faixa etária pediátrica (16).

Algumas síndromes genéticas se associam a um quadro de obesidade. Dentre elas, destaca-se a síndrome de Prader-Willi (OMIM 176270), caracterizada por hipotonia, retardo mental, hipogonadismo hipogonadotrófico e obesidade, geralmente, de início precoce e de

mau prognóstico. Os pacientes com essa síndrome apresentam um quadro de hiperfagia, relacionada a níveis elevados de grelina, um hormônio orexigênico. A síndrome de Bardet-Biedl (OMIM 209900) também se associa a quadros variáveis de obesidade, além de retardo mental, retinopatia pigmentar, polidactilia e anormalidades renais. A síndrome de Beckwith-Wiedemann (OMIM 130650) não se associa especificamente à obesidade na infância, mas ao crescimento generalizado e à visceromegalia. Outras síndromes raras, como a de Cohen (OMIM 216550), a deficiência congênita de leptina ou do seu receptor, entre outras, também estão relacionadas com formas graves de obesidade.

Há evidências que a obesidade infantil tem, muitas vezes, sua origem no ambiente intra-uterino (3). Esse, quando adverso, com o conseqüente atraso do crescimento fetal, influencia o acúmulo posterior de gordura e, dessa forma, o desenvolvimento de complicações relacionadas à obesidade. O rápido acúmulo de gordura, nos primeiros anos de vida (especialmente nos primeiros meses), está associado ao desenvolvimento da síndrome metabólica na idade adulta, que se caracteriza pela detecção concomitante de adiposidade abdominal, dislipidemia, hipertensão arterial e intolerância à glicose (17).

Em síntese, a obesidade infantil é a expressão fenotípica final resultante da influência de fatores ambientais e comportamentais em indivíduos geneticamente susceptíveis. Tem, portanto, como causa principal, os fatores exógenos. As mudanças na quantidade e na qualidade da alimentação, além da drástica redução da atividade física são os principais fatores responsáveis pelo aumento da prevalência da obesidade em crianças e adolescentes nos últimos 35 anos.

Um grande estudo de coorte (18), com mais de 8 mil crianças, identificou nos primeiros anos de vida oito fatores relacionados à obesidade infantil (aos 7 anos de idade): 1) obesidade dos pais; 2) ganho excessivo de gordura ou de IMC em idades muito precoces; 3) hábito de assistir à televisão por mais de 8 horas por semana na idade de 3 anos; 4)

recuperação da curva de crescimento (*catch up*); 5) desvio-padrão de peso aos 8 e 18 meses; 6) ganho de peso excessivo no 1º ano de vida; 7) peso ao nascimento; 8) sono noturno menor que 10,5 horas na idade de 3 anos. Além desses fatores, evidências apontam o leite materno como protetor contra o sobrepeso futuro, em algumas populações (19).

Ainda que raras, as causas endócrinas devem ser pesquisadas quando, além de obesidade, houver sinais clínicos sugestivos de algum distúrbio hormonal. Endocrinopatias caracterizadas por diminuição do gasto energético e da velocidade de crescimento resultam no desenvolvimento de baixa estatura e adiposidade central. É o caso das deficiências de hormônio do crescimento e de hormônio tireoidiano (ou uma combinação dos dois), como também pode ocorrer no hipercortisolismo ou síndrome de Cushing. Tal síndrome ainda se acompanha de hipertensão, dislipidemia, intolerância à glicose, face de “lua cheia”, estrias violáceas e fraqueza muscular.

A obesidade infantil é uma freqüente complicação de tratamentos (cirurgias e/ou irradiação) direcionados a doenças do sistema nervoso central, como tumores e traumas. Os mecanismos implicados no rápido ganho de peso pós-operatório são pouco conhecidos, mas envolvem a diminuição da atividade física, alterações hipotalâmicas em centros reguladores da fome e saciedade, além de disfunções do sistema nervoso simpático (7).

O uso crônico de alguns medicamentos deve ser pesquisado ao se avaliar uma criança ou adolescente com obesidade. O uso prolongado de glucocorticóides, tópicos ou sistêmicos, é a principal causa de hipercortisolismo. Drogas anti-psicóticas, valproatos, progestágenos, entre outros, também se associam freqüentemente ao ganho de peso, além de dislipidemia e intolerância à glicose (7).

## ***2.5 O tecido adiposo como órgão endócrino***

Desde 1994, ano da descoberta da leptina, o tecido adiposo deixou de ser considerado apenas como um reservatório passivo de energia, passando então a assumir o papel de órgão endócrino (20). Além da secreção de ácidos graxos livres, o tecido adiposo expressa e secreta vários peptídeos bioativos, as chamadas adipocinas, atuantes tanto no nível local (ação parácrina/autócrina) quanto no sistêmico (ação endócrina) (20). Tais substâncias desempenham diversas funções metabólicas, como a regulação do acúmulo e gasto energético, a regulação do metabolismo de glicose, lípides, além de efeitos imunológicos anti- e pró-inflamatórios. O tecido adiposo contém ainda uma complexa maquinaria metabólica, capaz de interagir com diversos órgãos e sistemas à distância, tais como o sistema nervoso central (SNC), o sistema cardiovascular (SCV) e os rins (21).

## ***2.6 Consequências da Obesidade Infantil***

A obesidade na infância pode levar a danos imediatos à saúde, como dislipidemia, hipertensão arterial, microalbuminúria, esteatose hepática não-alcoólica, problemas ortopédicos, baixa auto-estima, intolerância à glicose ou até o início precoce do diabetes mellitus tipo 2 (6,7). Nos EUA, o diabetes mellitus tipo 2 é responsável por até 45% dos novos casos de diabetes diagnosticados nos pacientes pediátricos, principalmente nas populações afro- e hispano-americanas, com maiores taxas de obesidade (22).

Ainda que não haja uma definição uniforme de síndrome metabólica para pacientes pediátricos, alguns estudos demonstram relação direta entre o grau de obesidade e sua prevalência, associada à morbi-mortalidade na vida adulta por doenças cardiovasculares (7,23).

Um grande trabalho envolvendo mais de 2600 adolescentes mostrou que aqueles com sobrepeso têm 50-70% de chance de se tornarem adultos com sobrepeso ou obesidade (2).

Além disso, a maior prevalência de obesidade nas últimas décadas tem contribuído muito para o aumento dos custos relativos à saúde (pública e privada). Um estudo americano, incluindo crianças e adolescentes de 6 a 17 anos, mostrou que os custos hospitalares referentes a doenças relacionadas à obesidade aumentaram cerca de 3 vezes, em 10 anos (22).

## ***2.7 Avaliação clínico-laboratorial***

### *Anamnese e exame físico*

A história médica detalhada, aliada ao exame físico, é de grande importância para se diferenciar causas primárias de obesidade de causas secundárias (doenças genéticas, endócrinas, lesões do SNC ou ainda causas iatrogênicas) (7).

Como toda anamnese pediátrica, informações sobre a gestação e o período neonatal são de grande importância, como, por exemplo, história de crescimento intra-uterino retardado e de diabetes gestacional. Os dados antropométricos ao nascimento, como peso e comprimento, devem ser solicitados, já que os recém-nascidos pequenos para a idade gestacional e os filhos de mãe diabética têm maior risco para o desenvolvimento de anormalidades metabólicas futuras (17).

Devem-se obter informações detalhadas sobre a alimentação, desde os primeiros meses de vida: leite materno ou fórmula artificial, idade de introdução de sólidos, avaliação da quantidade calórica ingerida, assim como sua distribuição, a rotina da criança ou adolescente e dados sobre o preparo da dieta. A época de início do ganho de peso e o aparecimento de outros sinais ou sintomas também devem ser investigados.

Distúrbios do sono, como dificuldade respiratória, associados a déficit de atenção e sonolência durante o dia podem ser sinais de apnéia do sono, representando uma comorbidade do sobrepeso.

Durante a anamnese, devem-se valorizar as questões psicológicas relativas à criança e seus relacionamentos com seus pares, pois muitas vezes sintomas depressivos, ansiedade e baixa auto-estima estão presentes e influenciarão no tratamento.

Hábitos sedentários, como o tempo dedicado à televisão, computador e jogos eletrônicos devem ser descritos. É importante detalhar também a prática de atividades físicas, além do ambiente em que é realizada. Avaliar se a obesidade traz algum prejuízo ortopédico que possa atrapalhar a realização de esportes, como dores articulares. Recomenda-se investigar ainda o uso prévio de medicamentos obesogênicos e história de lesões do SNC, cujos tratamentos envolveram cirurgia ou radioterapia. Além disso, a história familiar deve incluir informações sobre obesidade, doenças cardiovasculares, dislipidemia e distúrbios do metabolismo glicêmico nos parentes de 1º grau.

No exame físico, deve-se inicialmente realizar as medidas antropométricas: peso, estatura, circunferência abdominal, frequência cardíaca e pressão arterial. Observar dismorfismos corporais e sinais clínicos, como hipotonia muscular, que possam sugerir alguma síndrome genética.

À ectoscopia, procurar por sinais de resistência à insulina, como a presença de acantose *nigricans* e a distribuição abdominal de gordura. Observar se há estrias violáceas, acne e outros sinais que possam sugerir hipercortisolismo. Nas adolescentes com sobrepeso ou obesidade, investigar sinais de hiperandrogenismo, como acne e hirsutismo, além de alterações do ciclo menstrual, que podem sugerir a síndrome dos ovários policísticos, intimamente relacionada à resistência insulínica. A palpação abdominal pode revelar hepatomegalia, possível sinal de esteatose hepática.

### *Exames laboratoriais*

Os exames laboratoriais devem ser solicitados após uma estimativa de risco metabólico e cardiovascular, com base nos dados da anamnese e exame físico. De modo geral, a triagem metabólica dos pacientes com sobrepeso e obesidade deve incluir as dosagens de glicemia e insulina de jejum, colesterol total e frações, triglicérides, provas de função tireoidiana e hepática (7).

Os pacientes com maior risco de síndrome metabólica, como os obesos graves, com IMC para idade superior a 3 desvios-padrão, acantose *nigricans* e/ou com história familiar positiva para diabetes devem realizar o teste de tolerância oral à glicose, com as dosagens de glicose e insulina 2 horas após a ingestão de 1,75g/Kg de dextrosol (máximo de 75g) (6,7).

Se houver hepatomegalia e/ou elevação de transaminases hepáticas, o que ocorre em cerca de 10% dos obesos, o ultra-som abdominal deve ser solicitado, para avaliar a existência de esteatose hepática. Da mesma forma, o ecocardiograma, se houver suspeita de anormalidades das câmaras cardíacas. A polissonografia deverá ser realizada nos casos suspeitos de apnéia do sono (7).

Nos últimos anos, estudos têm mostrado o valor da dosagem quantitativa de alta sensibilidade da proteína C-reativa nos casos de sobrepeso e obesidade, pela correlação positiva dos seus níveis com o IMC e com o risco cardiovascular (20,24). No entanto, é necessário uma melhor definição dos valores de referência para idade e sexo.

Se houver suspeita de doenças específicas, como hipercortisolismo ou alguma síndrome genética, exames específicos deverão ser indicados. É recomendável, nesses casos, a participação de um especialista em Endocrinologia Pediátrica.

## **2.8 Tratamento**

O tratamento da obesidade infantil visa sobretudo à diminuição das co-morbidades associadas, em curto e longo prazo. As crianças obesas têm maior vulnerabilidade às complicações decorrentes do excesso de tecido adiposo, justificando ações preventivas e terapêuticas.

Tendo em vista que crianças e adolescentes com sobrepeso apresentam maior risco de dislipidemia, hipertensão arterial e intolerância à glicose (7,8), torna-se evidente a necessidade de tratamento, que se baseia inicialmente em orientações alimentares e aumento da atividade física. Por outro lado, apesar de algumas crianças e adolescentes com obesidade, mesmo com formas graves da doença, não apresentarem co-morbidades, continua a ser recomendada a mudança de estilo de vida, associada ou não ao tratamento medicamentoso, já que muitas vezes esse grupo apresenta graves distúrbios emocionais. Abordagens terapêuticas mais agressivas devem ser realizadas nos pacientes que apresentam percentil de IMC para a idade maior ou igual a 95 (ou mais que 2 desvios-padrão), ou naqueles que apresentam sobrepeso associado a co-morbidades.

A abordagem da obesidade em crianças e adolescentes geralmente necessita da participação de uma equipe interdisciplinar. Tais equipes devem incluir psicoterapeuta, nutricionista, endocrinologista e professor de educação física. O objetivo do trabalho em equipe é sobretudo propiciar uma abordagem mais ampla do paciente, procurando envolvê-lo, bem como seus familiares, no processo terapêutico.

O objetivo inicial do tratamento é restaurar o balanço energético, equilibrando a relação ganho/gasto calórico. Nos casos em que é clara a ingestão calórica excessiva, a restrição alimentar deverá ser aplicada, associada a um maior gasto energético, ou seja, aumento da atividade física. Deve-se objetivar, em longo prazo, alcançar o percentil 85 de

IMC para sexo e idade, já que a gravidade da obesidade no adulto está relacionada à gravidade e persistência da obesidade na infância (25).

A estabilização do peso em crianças em crescimento reduz o IMC progressivamente. É um objetivo a ser atingido no tratamento de crianças de 2 a 6 anos obesas e sem complicações secundárias. A perda de peso é recomendada para crianças de 2 a 6 anos obesas e com comorbidades, e para as crianças maiores de 6 anos, cujos percentis de IMC para idade e sexo superem 85. A redução de 5 a 10% do peso e a sua manutenção por 2 a 5 anos melhora significativamente a sensibilidade à insulina e, conseqüentemente, a tolerância à glicose, além de outros benefícios (25).

Quanto à abordagem nutricional, medidas simples podem ser muito eficazes para aqueles pacientes com erros alimentares graves. O aumento do consumo de frutas e vegetais, a diminuição das porções servidas, o intervalo regular entre as refeições, evitando longos períodos sem se alimentar, são exemplos de orientações que devem ser feitas inicialmente.

Restrições calóricas leves a moderadas são geralmente seguras e podem ser eficientes quando as crianças obesas e seus familiares estão suficientemente motivados para manter por tempo prolongado as mudanças de estilo de vida adotadas inicialmente. Algumas crianças, no entanto, extremamente obesas ou com complicações secundárias, necessitam dietas mais restritivas. As orientações nutricionais devem visar à redução calórica com um aporte de proteínas e carboidratos minimamente suficiente para promover cetose, sem perda de massa magra. Para tal, a participação de nutricionista, sob supervisão médica, é de grande utilidade. Nesses casos, atenção deve ser dada às deficiências de vitaminas, minerais e micronutrientes essenciais, que podem afetar a mineralização óssea e o crescimento linear.

Especula-se que a qualidade dos carboidratos ingeridos possa interferir no ganho de peso. A secreção de insulina em resposta à ingestão de alimentos contendo açúcares simples (com alto índice glicêmico), como refrigerantes e doces, supera a que é desencadeada por

alimentos com altas concentrações de proteínas, gorduras e fibras. Dessa forma, o tipo de dieta pode provocar um estado de hiperinsulinemia crônica, contribuindo para o ganho de peso. Estudos sobre os efeitos dos alimentos com altos índices glicêmicos no peso de crianças pequenas são inconclusivos (7). Já os trabalhos envolvendo adolescentes têm mostrado que a diminuição da ingestão de refrigerantes, suco e líquidos ricos em açúcar tem uma associação independente e negativa sobre o IMC e a massa adiposa (26).

Em contrapartida, a ingestão de fibras solúveis e insolúveis deve ser estimulada, já que há uma diminuição da absorção de macronutrientes e conseqüente aumento da oxidação de ácidos graxos livres, diminuindo o risco de desenvolver doenças cardiovasculares.

Os programas comportamentais direcionados ao tratamento de pacientes obesos são trabalhosos, geralmente de alto custo e requerem uma intensa participação dos pais, o que na maioria das vezes não é possível. Incluem geralmente a participação de equipes interdisciplinares. Alguns trabalhos sugerem que o tratamento comportamental para obesos é mais efetivo para crianças e adolescentes do que para adultos. No entanto, mesmo estudos conduzidos em centros especializados para o tratamento da obesidade infantil têm mostrado que apenas metade dos pacientes pediátricos tratados com modificação dos hábitos de vida obtiveram manutenção da perda de peso em longo prazo (27).

Como parte do tratamento das crianças e adolescentes obesos, recomenda-se o estímulo à atividade física. As atividades devem ser divertidas, adequadas à idade e direcionadas ao interesse e condições do paciente. Deve-se estimular exercícios preferencialmente aeróbicos e que envolvam grandes grupos musculares, aumentando assim o gasto energético (7). Uma das grandes dificuldades para convencer alguns obesos a praticarem exercícios físicos é o seu receio de exposição pública. As comunidades e escolas deveriam promover programas de integração social dessas crianças, criando um meio saudável de convivência e atividade física.

Os benefícios do exercício físico incluem a redução da gordura total e visceral, o aumento da taxa de metabolismo basal e melhora do perfil metabólico, com o aumento da sensibilidade à insulina pelo tecido adiposo, redução da concentração de ácidos graxos livre, de colesterol LDL e triglicérides e aumento da concentração de colesterol HDL. Um recente estudo em adultos jovens mostrou que o exercício físico orientado durante 5 dias por semana (aumento de 12,5% do gasto energético), associado à dieta restritiva (redução de 12,5% da energia consumida), por 6 meses, não mostrou efeito superior (redução de peso e massa adiposa) à dieta restritiva isolada. No entanto, houve aumento do condicionamento aeróbico no primeiro grupo, o que se relaciona com melhora do perfil metabólico e cardiovascular (28).

A associação de dieta e exercício físico no tratamento da obesidade infantil geralmente resulta numa redução efetiva do IMC em curto prazo. Por outro lado, em longo prazo, as mudanças de estilo de vida têm se mostrado desapontadores, como demonstrou o trabalho de Pinnelli L *et al.*, com uma taxa de desistência de 30-40% dos 1.383 pacientes pediátricos obesos envolvidos, em apenas 3 meses de tratamento (29). Uma revisão da Cochrane de 2003, com ensaios clínicos randomizados com mais de 6 meses de duração, mostrou que a maioria dos estudos realizados com esse intuito envolve um número pequeno de pacientes e por pouco tempo de seguimento para se detectar os efeitos do tratamento. Além disso, poucos ensaios usam os mesmos critérios de comparação e de resultados (30). As evidências científicas disponíveis para esse tipo de análise são, portanto, de qualidade limitada e devem ser interpretadas de forma cautelosa.

#### *Tratamento medicamentoso*

Quando as mudanças de estilo de vida (sob supervisão médica) falham na redução de peso, uma reavaliação dos riscos e co-morbidades deverá ser feita. Tratamentos mais agressivos, como a farmacoterapia, poderão ser instituídos, desde que haja critérios clínico-laboratoriais para sua indicação (7). As drogas disponíveis no mercado para o tratamento da

obesidade incluem agentes estimulantes (contra-indicados na faixa etária pediátrica), anorexígenos, redutores de absorção de nutrientes e drogas que alteram o metabolismo insulínico (produção e ação).

O único saciatório aprovado atualmente para o uso em adolescentes maiores de 16 anos é a sibutramina, um inibidor não-seletivo da recaptação de serotonina, noradrenalina e dopamina, cujo principal efeito é promover saciedade. Além disso, um estudo recente mostrou que a sibutramina pode prevenir a redução da taxa de metabolismo basal, efeito observado no grupo-placebo tratado apenas com dieta restritiva (31). Seu uso é recomendado em associação à dieta restritiva e aos exercícios físicos, nos casos selecionados. Apresenta maior efeito durante os 4 a 6 primeiros meses de uso e sua administração por mais de 2 anos não é recomendada. Como efeitos colaterais, destacam-se a hipertensão arterial, taquicardia, insônia, sudorese, ansiedade e constipação intestinal. Portanto, seu uso é contra-indicado para os obesos com hipertensão arterial não-controlada.

Um trabalho envolvendo adolescentes mostrou benefício do uso de sibutramina associado a dieta e atividade física, com redução de IMC de  $8,5 \pm 6,8\%$  em 6 meses de tratamento, em comparação ao grupo que utilizou placebo ( $4,0 \pm 5,4\%$ ). Além da perda de peso, houve redução da insulina de jejum e aumento dos níveis de colesterol HDL. Apesar da perda de peso inicial, não houve benefício adicional nos 6 meses seguintes (32). No entanto, vários pacientes apresentaram efeitos colaterais, necessitando redução ou até mesmo suspensão da medicação.

O orlistat, inibidor da lipase pancreática, age no intestino, reduzindo a absorção de triglicerídeos. Sua ação promove a perda de peso e a redução dos níveis de colesterol LDL (33). No Brasil, seu uso é aprovado para adolescentes com mais de 12 anos. Seus efeitos adversos incluem a esteatorréia, o desconforto abdominal e a deficiência de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K), os quais podem ser minimizados pela redução da ingestão de

gorduras e pela reposição polivitamínica. O estudo de Mc Duffie *et al.* mostrou que o orlistat associado a dieta e atividade física, por 3 meses, reduziu significativamente o peso, o IMC, o colesterol total e LDL, a glicemia e insulina de jejum e aumentou a sensibilidade à insulina em adolescentes (34). Apesar dos bons resultados iniciais, a maioria dos pacientes em uso de orlistat interrompeu o uso da medicação após alguns meses, pela dificuldade de restrição prolongada a alimentos gordurosos, o que ocasiona invariavelmente flatulência e esteatorréia.

A metformina, fármaco que aumenta a sensibilidade à insulina, reduz a produção hepática de glicose e aumenta a sua captação pelos tecidos periféricos. Além da melhora da sensibilidade à insulina, exerce um efeito anorexigênico, com conseqüente perda de peso, diminuição da adiposidade (principalmente visceral) e melhora do perfil lipídico. Aprovada para o uso em adolescentes a partir dos 10 anos de idade, é considerada uma medicação segura e bem tolerada. Seus efeitos colaterais incluem desconforto abdominal, elevação leve de transaminases hepáticas e acidose láctica. Este medicamento tem sido amplamente prescrito para os pacientes adultos com diabetes mellitus tipo 2, apresentando, portanto, um potencial terapêutico para adolescentes obesos com resistência à insulina (7). Nesse contexto, ensaios clínicos randomizados, controlados e com duplo mascaramento, envolvendo adolescentes obesos com resistência à insulina, tolerância normal à glicose e história familiar positiva para diabetes mellitus tipo 2, mostraram efeitos benéficos em curto prazo em relação ao peso, sensibilidade à glicose, perfil lipídico e leptina, com ou sem dieta restritiva associada (35). Em contrapartida, recentemente um ensaio randomizado com duplo mascaramento não detectou perda de peso significativa com o uso da metformina associada a dieta e exercício físico (36).

O análogo da somatostatina octreotide se liga ao receptor-5 de somatostatina na membrana da célula beta pancreática, promovendo uma redução da secreção de insulina. Um

estudo piloto utilizando essa medicação no tratamento de crianças e adolescentes com obesidade hipotalâmica mostrou bons resultados e boa tolerabilidade (37).

### *Cirurgia bariátrica*

Infelizmente, os resultados em longo prazo dos tratamentos comportamentais e farmacológicos de crianças e adolescentes obesos têm sido desapontadores, especialmente dos casos mais graves. Nos últimos anos, a cirurgia bariátrica se tornou uma opção de tratamento para os adolescentes gravemente obesos e com co-morbidade associadas (38). As técnicas cirúrgicas mais realizadas são o *bypass* gástrico (ou derivação gastro-jejunal) em “Y de Roux” e a bandagem gástrica regulável. Há maior tendência de utilização da derivação gastro-jejunal nos adolescentes.

É recomendável que, previamente à indicação cirúrgica, os pacientes-candidatos estejam psicologicamente preparados, e com uma estrutura familiar bem consolidada, condições mínimas necessárias para uma boa aderência ao tratamento. Uma equipe multidisciplinar deverá participar de todo o processo de seleção, preparo e procedimento cirúrgico, assim como o acompanhamento em curto e longo prazo (39). A cirurgia deverá ser realizada em centro terciário de atenção à saúde, por equipe cirúrgica experiente (39). O consentimento informado dos pais ou responsáveis deverá ser obtido previamente à realização do procedimento cirúrgico.

A cirurgia poderá ser indicada aos adolescentes com no mínimo 6 meses de tratamento médico mal sucedido e que tenham preenchido critérios antropométricos, médicos e psicológicos. Consideram-se candidatos os adolescentes cuja maturação óssea e sexual corresponda no mínimo a 13 anos de idade para as meninas e 15 anos de idade para os meninos (38), cujo IMC seja superior a  $40 \text{ Kg/m}^2$ , ou superior a  $35 \text{ Kg/m}^2$  em associação a co-morbidades relacionadas ao excesso de peso (40). Constata-se, no entanto, que não há consenso sobre os critérios de indicação para adolescentes (40).

Os pacientes devem ser capazes de seguir corretamente as recomendações nutricionais pós-operatórias e manter regularmente o acompanhamento médico e psicológico. Além disso, as adolescentes devem concordar em evitar a gravidez por, no mínimo, um ano após a cirurgia, pelo risco oferecido ao feto, relacionado à rápida perda de peso pós-cirurgia (38). A reposição de vitaminas, minerais e oligoelementos essenciais é de extrema importância no pós-operatório (38).

## **2.9 Conclusão**

A prevalência da obesidade na infância e adolescência tem aumentado muito nas últimas décadas, em todo o mundo. Os maus hábitos alimentares e o sedentarismo são apontados como as principais causas desse fenômeno. A avaliação clínico-laboratorial deve ser indicada às crianças e adolescentes com percentil de IMC superior a 85, para sexo e idade. As consequências da obesidade incluem dislipidemia, hipertensão arterial, problemas ortopédicos, baixa auto-estima, intolerância à glicose ou até o início precoce do diabetes mellitus tipo 2. Frequentemente, crianças e adolescentes obesos se tornam adultos obesos, com a manutenção dos riscos de doenças metabólicas e cardiovasculares. O tratamento da obesidade, assim como das suas complicações, deve ser feito de forma interdisciplinar e com participação da família. Apesar de mostrar bons resultados em curto prazo, as mudanças de estilo de vida têm-se mostrado desapontadoras em longo prazo. O tratamento medicamentoso pode ser indicado aos adolescentes como adjuvante à terapia comportamental, porém seus resultados em longo prazo também têm sido decepcionantes. A cirurgia bariátrica se apresenta nos últimos anos como opção para os adolescentes com obesidade mórbida e co-morbidades associadas. Seu sucesso depende de uma integração do paciente, de sua família e da equipe multiprofissional envolvida. Em geral, medidas preventivas devem ser estimuladas, com a participação do governo, das escolas, das indústrias de alimentos e dos profissionais da saúde,

estimulando hábitos de vida saudáveis. Estudos adicionais são necessários para promover a prevenção e aprimorar o tratamento da obesidade na criança e adolescência.

## ***2.10 Referências bibliográficas***

1. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. Technical Report Series 894. Geneva, 2000.
2. Clarke WR, Lauer RM. Does childhood obesity track into adulthood? Crit Rev Food Sci Nutr. 1993;33(4-5):423-30.
3. Oken E, Gillman MW. Fetal origins of obesity. Obes Res. 2003 Apr;11(4):496-506.
4. Kral JG, Biron S, Simard S, Hould FS, Lebel S, Marceau S, Marceau P. Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years. Pediatrics. 2006 Dec;118(6):e1644-9.
5. Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. BMJ. 2000 May 6;320(7244):1240-3.
6. Lee WW. An overview of pediatric obesity. Pediatr Diabetes. 2007 Dec;8 Suppl 9:76-87.
7. Speiser PW, Rudolf MC, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, *et al.* Childhood obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2005 Mar;90(3):1871-87.
8. Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL, Carroll MD, Curtin LR, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents, and adults, 1999-2002. JAMA. 2004 Jun 16;291(23):2847-50.
9. IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Antropometria e análise do estado nutricional de crianças e adolescentes no Brasil. Rio de Janeiro, 2006.
10. Costa RF, Cintra Ide P, Fisberg M. Prevalence of overweight and obesity in school children of Santos city, Brazil. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2006 Feb;50(1):60-7.

11. Johnson CA, Xie B, Liu C, Reynolds KD, Chou CP, Koprowski C et al. Socio-demographic and cultural comparison of overweight and obesity risk and prevalence in adolescents in Southern California and Wuhan, China. *J Adolesc Health*. 2006 Dec;39(6):925.e1-8.
12. Wang Y, Zhang Q. Are American children and adolescents of low socioeconomic status at increased risk of obesity? Changes in the association between overweight and family income between 1971 and 2002. *Am J Clin Nutr*. 2006 Oct;84(4):707-16.
13. Maffeis C, Pietrobelli A, Grezzani A, Provera S, Tatò L. Waist circumference and cardiovascular risk factors in prepubertal children. *Obes Res*. 2001 Mar;9(3):179-87.
14. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: methods and development. Geneva: World Health Organization, 2006.
15. de Onis M, Garza C, Onyango AW, Borghi E. Comparison of the WHO child growth standards and the CDC 2000 growth charts. *J Nutr*. 2007 Jan;137(1):144-8.
16. Boston BA. The Hypothalamic path to obesity. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2004 Sep;17 Suppl 4:1289-95.
17. Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clark PM. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia*. 1993 Jan;36(1):62-7.
18. Reilly JJ, Armstrong J, Dorosty AR, Emmett PM, Ness A, Rogers I, Steer C, Sherriff A. Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. *BMJ*. 2005 Jun 11;330(7504):1357.
19. Grummer-Strawn LM, Mei Z. Does breastfeeding protect against pediatric overweight? Analysis of longitudinal data from the Centers for Disease Control and Prevention Pediatric Nutrition Surveillance System. *Pediatrics*. 2004 Feb;113(2):e81-6.
20. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2548-56.

21. Fruhbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ, Burrell MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001 Jun;280(6):E827-47.
22. Wang G, Dietz WH. Economic burden of obesity in youths aged 6 to 17 years: 1979-1999. *Pediatrics*. 2002 May;109(5):E81-1.
23. Zimmet P, Alberti K George MM, Kaufman F, Tajima N, Silink M, *et al*. IDF Consensus Group. The metabolic syndrome in children and adolescents – an IDF consensus report. *Pediatric Diabetes* 2007; 8: 299–306.
24. Brasil AR, Norton RC, Rossetti MB, Leão E, Mendes RP. C-reactive protein as an indicator of low intensity inflammation in children and adolescents with and without obesity. *J Pediatr (Rio J)*. 2007 Sep-Oct;83(5):477-80.
25. Dietz WH, Robinson TN. Clinical practice. Overweight children and adolescents. *N Engl J Med*. 2005 May 19;352(20):2100-9.
26. Ludwig DS, Peterson KE, Gortmaker SL. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet*. 2001 Feb 17;357(9255):505-8.
27. Yanovski JA, Yanovski SZ. Treatment of pediatric and adolescent obesity. *JAMA*. 2003 Apr 9;289(14):1851-3.
28. Redman LM, Heilbronn LK, Martin CK, Alfonso A, Smith SR, Ravussin E. Effect of calorie restriction with or without exercise on body composition and fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Mar;92(3):865-72.
29. Pinelli L, Elerdini N, Faith MS, Agnello D, Ambruzzi A, De Simone M, *et al*. Childhood obesity: results of a multicenter study of obesity treatment in Italy. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 1999;12 Suppl 3:795-9.

30. Summerbell CD, Ashton V, Campbell KJ, Edmunds L, Kelly S, Waters E. Interventions for treating obesity in children. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(3):CD001872.
31. Van Mil EG, Westerterp KR, Kester AD, Delemarre-van de Waal HA, Gerver WJ, Saris WH. The effect of sibutramine on energy expenditure and body composition in obese adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Apr;92(4):1409-14.
32. Berkowiz RI, Wadden TA, Tershakovec AM, Cronquist JL. Behavior therapy and sibutramine for the treatment of adolescent obesity: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003 Apr 9;289(14):1805-12.
33. Maahs D, de Serna DG, Kolotkin RL, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of orlistat for weight loss in adolescents. *Endocr Pract*. 2006;12(1):18-28.
34. McDuffie JR, Calis KA, Uwaifo GI, Sebring NG, Fallon EM, Hubbard VS, Yanovski JA. Three-month tolerability of orlistat in adolescents with obesity-related comorbid conditions. *Obes Res*. 2002 Jul;10(7):642-50.
35. Freemark M, Bursey D. The effects of metformin on body mass index and glucose tolerance in obese adolescents with fasting hyperinsulinemia and a family history of type 2 diabetes. *Pediatrics*. 2001 Apr;107(4):E55.
36. Love-Osborne K, Sheeder J, Zeitler P. Addition of metformin to a lifestyle modification program in adolescents with insulin resistance. *J Pediatr*. 2008 Jun;152(6):817-22.
37. Lustig RH, Rose SR, Burghen GA, Velasquez-Mieyer P, Broome DC, Smith K, *et al*. Hypothalamic obesity in children caused by cranial insult: altered glucose and insulin dynamics, and reversal by a somatostatin agonist. *J Pediatr*. 1999. 135:162–168.
38. Inge TH, Krebs NF, Garcia VF, Skelton JA, Guice KS, Strauss RS, *et al*. Bariatric surgery for severely overweight adolescents: concerns and recommendations. *Pediatrics*. 2004 Jul;114(1):217-23.

39. Wittgrove AC, Buchwald H, Sugerman H, Pories W; American Society for Bariatric Surgery. Surgery for severely obese adolescents: further insight from the American Society for Bariatric Surgery. *Pediatrics*. 2004 Jul;114(1):253-4.
40. Bult MJ, van Dalen T, Muller AF. Surgical treatment of obesity. *Eur J Endocrinol*. 2008 Feb;158(2):135-45.

### **3 OBJETIVOS**

O objetivo principal desse trabalho foi determinar, em crianças e adolescentes obesos, as concentrações plasmáticas do marcador de hipofibrinólise, PAI-1, e de leptina.

#### ***3.1 Objetivos Específicos***

- a. Determinar a dosagem sérica de PAI-1 e leptina em crianças e adolescentes obesos, estratificados por estágio puberal.
- b. Determinar a dosagem sérica de PAI-1 e de leptina em crianças e adolescentes saudáveis, eutróficos, pareados conforme sexo, idade e estágio puberal (grupo-controle);
- c. Comparar esses parâmetros obtidos nos pacientes obesos com aqueles detectados em crianças e adolescentes saudáveis (grupo-controle);
- d. Verificar se existe associação entre as concentrações de leptina e PAI-1 e o índice de massa corporal (IMC), o grau de resistência à insulina, dislipidemia e demais características clínicas pesquisadas, como pressão arterial, relação circunferência abdominal/estatura e estágio puberal.

## **4 PACIENTES E MÉTODOS**

### **4.1 Pacientes**

Oitenta e seis crianças e adolescentes, em acompanhamento endocrinológico no sistema privado de saúde, de dezembro de 2006 a janeiro de 2008, fizeram parte deste estudo. O grupo-caso foi composto por 61 crianças e adolescentes obesos, encaminhados para atendimento ou já em acompanhamento endocrinológico, dentro de uma faixa etária de 4 a 19 anos de idade (amostra de conveniência). O grupo-controle foi composto por 25 crianças e adolescentes eutróficos e saudáveis, pareados por sexo e estágio puberal.

A inclusão definitiva dos pacientes no estudo ocorreu apenas mediante consentimento livre e esclarecido dos seus responsáveis (Anexo I).

#### **4.1.1 Critérios de exclusão**

Foram excluídos do estudo os pacientes com diabetes mellitus tipo 1, síndromes ligadas à obesidade, hipertensão arterial não-associada à obesidade, gravidez, distúrbios tireoidianos, tabagismo, uso de drogas que alterem a pressão arterial ou o metabolismo de glicose e lípidos, processo infeccioso ativo ou auto-imune.

#### **4.1.2 Aspectos Éticos**

O Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG aprovou o estudo (Anexo II). Todos os pacientes e seus responsáveis foram esclarecidos sobre a natureza do estudo por meio da leitura e análise do termo de consentimento livre e esclarecido. As crianças e adolescentes obesos e eutróficos foram incluídos no estudo somente mediante concordância e assinatura do termo de consentimento por parte do responsável. O protocolo de pesquisa não interferiu com qualquer recomendação ou prescrição médica. Ressalta-se ainda que o

seguimento clínico-laboratorial e a abordagem terapêutica dos pacientes foram assegurados, mesmo no caso de recusa em participar do estudo.

## **4.2 Métodos**

### **4.2.1 Protocolo do estudo**

Trata-se de um estudo transversal com amostra de conveniência, com um total de 86 pacientes (43 do sexo masculino).

O preenchimento do protocolo e o exame clínico foram realizados por duas endocrinologistas pediátricas devidamente treinadas para realizá-los da mesma forma. As crianças que preencherem os critérios de inclusão no trabalho, após esclarecimento e assinatura do termo de consentimento, foram avaliadas da seguinte forma:

#### **a) Realização de consulta médica com ênfase especial no exame clínico:**

- Dados antropométricos: peso em balança Filizola®; estatura medida em estadiômetro de Harpenden, com técnica padronizada (1). O cálculo do IMC foi feito dividindo-se o peso (Kg) pelo quadrado da estatura (m). Foram consideradas obesas as crianças e adolescentes com IMC maior ou igual ao percentil 95 para idade e sexo, segundo os critérios diagnósticos adotados pelo *Obesity Consensus Working Group* (2). Aqueles com IMC entre os percentis 10 e 85 para idade e sexo foram classificados como eutróficos. Para tal classificação, utilizaram-se os gráficos de IMC do *National Center for Health Statistics* (NCHS), de 2000 (3).
- Medida da circunferência da cintura no ponto logo acima da crista ilíaca ântero-superior, no nível da cicatriz umbilical, segundo as orientações do NCHS (1). Utilizou-se no estudo a relação circunferência abdominal (cm) / estatura (cm).

- Medida de pressão arterial com braçadeira de largura própria às medidas do braço. Classificaram-se os pacientes segundo os percentis de pressão arterial para a idade, estatura e sexo, publicados no 4º relatório de diagnóstico, avaliação e tratamento da hipertensão arterial em crianças e adolescentes (4). Os pacientes foram agrupados conforme sua classificação:
  1. Normotensos: pressão sistólica e diastólica menor ou igual ao percentil 90;
  2. Pré-hipertensos: pressão sistólica ou diastólica entre os percentis 90 e 95;
  3. Hipertensos: pressão sistólica ou diastólica maior ou igual ao percentil 95.
- Pesquisa da presença de acantose *nigricans* em cinco localizações, e classificação segundo critérios de Burke e colaboradores (5)
- Pesquisa da presença e classificação do hirsutismo, segundo critérios de Ferriman e Gallwey (6).
- Classificação do estágio puberal segundo os critérios de Tanner (7). Os pacientes foram então agrupados conforme sua classificação:
  1. Tanner I (pré-púberes);
  2. Tanner II + III (puberdade inicial);
  3. Tanner IV + V (puberdade avançada).
- Pesquisa e caracterização de estrias.
- Pesquisa da presença de hepatomegalia.

#### **b) Exames laboratoriais:**

Para a realização dos exames, os pacientes compareceram ao Laboratório Hermes Pardini. Segundo os protocolos estabelecidos no local, colheram-se amostras de sangue para a determinação de:

- Glicemia de jejum e 2 horas pós-dextrosol (1,75 g/Kg, máximo 75 g) – método colorimétrico enzimático (o grupo-controle não fez a dosagem pós-dextrosol). Para a interpretação dos resultados, foram considerados os critérios da *American Diabetes Association* (ADA) (8);
- Colesterol total e frações (HDL, LDL e VLDL) – método colorimétrico enzimático;
- Triglicérides – método colorimétrico enzimático;
- Insulina de jejum – quimioluminescência. Estimou-se a sensibilidade à insulina pelo cálculo do modelo homeostático de avaliação da resistência à insulina (HOMA-IR) (9):  

$$\text{glicose de jejum (mg/dl)} \times \text{insulina de jejum } (\mu\text{UI/L}) / 405.$$
- TSH – quimioluminescência: 0,3 a 5,0  $\mu\text{UI/mL}$
- T4 livre – quimioluminescência: 0,75 a 1,80 ng/dL;
- Leptina – radioimunoensaio (sem valores de referência para crianças e adolescentes).

### c) Exames laboratoriais especiais:

O processo de dosagem de PAI-1 foi realizado no Laboratório de Pesquisa da Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente (LPPG), da Faculdade de Medicina da UFMG, e no Laboratório de Hematologia da Faculdade de Farmácia (LHFF) da UFMG, através de colaboração entre as professoras Ana Cristina Simões e Silva (coordenadora do LPPG) e Luci Maria Sant’Ana Dusse.

Após jejum prévio de, pelo menos, 8 horas, cada paciente compareceu ao laboratório em companhia de seu responsável, para a coleta de amostra de sangue total (5 mL), em veia periférica.

A determinação das concentrações plasmáticas de PAI-1 foi realizada através de kit específico da American Diagnostica Inc.<sup>®</sup> (IMUBIND<sup>®</sup>), sendo as dosagens realizadas pela

técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA), conforme os protocolos estabelecidos no LPPG e no LHFF.

#### **4.2.2 Coleta e Processamento de Amostras**

As amostras de sangue para a dosagem de PAI-1 foram colhidas em tubo estéril contendo citrato como anti-coagulante e imediatamente armazenadas a 4°C. As amostras foram, então, processadas em até 30 minutos após a coleta. Utilizou-se centrífuga refrigerada a 4°C (Jouhan BR4i), com o seguinte protocolo: inicialmente, fez-se um ciclo a 2.100 rpm por 10 minutos; o plasma sobrenadante foi, a seguir, transferido para tubo estéril, que, por sua vez, foi centrifugado a 3.800 rpm por 20 minutos, para sedimentar-se as plaquetas (10). Depois dessa etapa, o plasma foi aliquotado em amostras de 0,5 ml, as quais foram armazenadas em freezer a -80°C, até a data do ensaio.

#### **4.2.3 Ensaios Imunoenzimáticos**

Os níveis plasmáticos de PAI-1 foram medidos usando o kit de ELISA (IMUBIND<sup>®</sup>) produzido pelo laboratório American Diagnostica Inc.<sup>®</sup> (Stamford, Connecticut, EUA). O ensaio permite a determinação quantitativa de diversas formas de PAI-1 humano e detecta tanto a forma ativa como a inativa, assim como o PAI-1 ligado ao t-PA e ao u-PA. Para a dosagem, foram seguidas as instruções do fabricante.

O protocolo de ELISA emprega micropoços revestidos de um anticorpo monoclonal (rato) contra o PAI-1 humano. Os padrões de PAI-1 e as amostras de plasma são adicionados a esses micropoços. Durante o período de incubação subsequente, o anticorpo captura o antígeno PAI-1 presente na amostra. Adiciona-se então aos micropoços um anticorpo policlonal (de cabra) conjugado com peroxidase, que se liga ao PAI-1 capturado. Após todo o material não-ligado ser lavado, um substrato para a enzima peroxidase (ortofenilendiamina) é

adicionado. A reação peroxidase/substrato gera uma solução de coloração amarela, a qual torna-se laranja, após a adição de ácido sulfúrico. A absorbância da solução é medida em espectrofotômetro com longitude de onda de 490nm (Molecular Devices SpectraMax®). A absorbância registrada é diretamente proporcional à quantidade de PAI-1 presente na amostra.

#### **4.2.4 Análise Estatística**

Para a análise estatística, utilizou-se o programa Stata®, versão 10.1. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro-padrão. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para a comparação de variáveis contínuas, com ou sem distribuição Gaussiana. As variáveis de distribuição não-Gaussiana foram transformadas em logaritmos antes da análise estatística. Modelos de regressão logística ordinal foram construídos para se identificar as variáveis associadas com os níveis de PAI-1. No modelo de regressão logística, considerou-se como variável-resposta a presença ou ausência de obesidade. As outras co-variáveis do estudo foram usadas como preditoras da condição de obeso. Considerou-se  $P < 0,05$  como limiar de significância estatística.

### **4.3 Referências Bibliográficas**

1. National Health and Nutrition Examination Survey. Anthropometry Procedures Manual. Available online at: <http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/bm.pdf>. 2002. Acessado em outubro de 2008.
2. Speiser PW, Rudolf MC, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, et al. Obesity Consensus Working Group. Childhood obesity. J Clin Endocrinol Metab. 2005 Mar;90(3):1871-87.

3. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM, et al. CDC growth charts: United States. Advance data from vital and health statistics, no. 314. Hyattsville (MD): National Center for Health Statistics; 2000.
4. 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. *Pediatrics*. 2004 Aug;114(2 Suppl 4th Report):555-76.
5. Burke JP, Hale DE, Hazuda HP, Stern MP. A quantitative scale of acanthosis nigricans. *Diabetes Care*. 1999 Oct;22(10):1655-9.
6. Ferriman D & Gallway JD. Clinical assessment of body hair growth in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1961 Nov;21:1440-7
7. Tanner JM. Growth at adolescence. 2<sup>a</sup> ed. Oxford: Blackwell Scientific. 21:1440–1448.
8. American Diabetes Association. Position Statement: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2006 29: S43-48.
9. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412-9.
10. Reinhold D, Bank U, Buhling F, Junker U, Kekow J, Schleicher E, et al. A detailed protocol for the measurement of TGF-beta1 in human blood samples. *J Immunol Methods*. 1997;209:203-6.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Childhood obesity: Evidence for association between plasminogen activator inhibitor-1 levels and visceral adiposity<sup>2</sup>**

#### **5.1 Introduction**

Obesity has become a worldwide health problem in the past three decades (1). Obese children frequently become obese adolescents and adults (2,3), with strong association to arterial hypertension, dislipidemia, glucose intolerance and increase of chronic inflammatory markers, leading to an elevated risk for cardiovascular diseases and increased adult morbidity and mortality (4,5). Although obesity is considered a major cardiovascular risk factor (6), the metabolic syndrome components (arterial hypertension, dyslipidemia and insulin resistance) cannot explain all cardiovascular events directly related to obesity. Other factors, as for instance, the haemostatic and fibrinolytic disturbances, which include platelet hyperaggregability, hypercoagulability and hypofibrinolysis, may probably be involved in atherosclerosis and, therefore, in cardiovascular risk (7).

In the last years, many studies have evidenced an important role of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), the main physiological inhibitor of plasminogen activation in blood, as a cardiovascular risk factor, mainly due to its strong association with components of insulin resistance syndrome (7-10). There is a positive correlation between PAI-1 levels and BMI, in both genders, in obese and non-obese subjects since childhood (7,9-12). In adults, PAI-1 concentrations were also positively correlated with levels of triglycerides, LDL, VLDL cholesterol and lipoprotein a (7). The first report on the association between visceral fat and PAI-1 was published by Cigolini *et al.* (13) and referred to adults. Later, this relationship was also confirmed in children and adolescents (9,14) and has proven to be independent of insulin

---

<sup>2</sup> Este capítulo será submetido ao periódico *Journal of Pediatrics* (Ver Anexo IV).

and triglycerides levels, total fat mass, insulin sensitivity and age (15). In addition, *in vitro* studies have shown that secretion of PAI-1 by adipocytes is influenced and triggered by many cytokines, hormones and growth factors, like tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (16), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), leptin, glucocorticoids, insulin and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (17-21).

However, there is a lack of data as to whether interactions of PAI-1, metabolic and clinical variables (such as triglycerides, insulin, visceral adiposity) and the adipocyte-derived peptide, leptin, are present in childhood obesity. Thus, in the present study, we further investigated the influence of pubertal status, blood pressure, visceral adiposity, leptin, insulin and triglycerides on PAI-1 levels in obese children and adolescents.

## **5.2 Subjects and Methods**

The present cross-sectional study used a convenience sample recruited from either the Pediatric Endocrinology Service or the Pediatric Primary Care Center of our institution, which were followed-up from 2006 to 2008.

### **5.2.1 Inclusion criteria**

Obese subjects included sixty-one multi-racial obese children and adolescents (30 male and 31 female) with mean age of  $10.5 \pm 0.4$  years (range 3.4 to 17.6 years). Obesity was defined as body mass index (BMI) above the 95<sup>th</sup> percentile for age and sex, according to the 2000 National Center for Health Statistics (NCHS) standards (22).

Twenty-five healthy children and adolescents with normal body mass index (BMI) were also enrolled in the study as controls, matched by age ( $11.0 \pm 0.5$  years, range 6.5 to 17.6 years), gender (12 male and 13 female) and pubertal status with obese group. BMI of control group was between the 10<sup>th</sup> and 85<sup>th</sup> BMI percentiles for sex and age. Health status was determined

through the subjects' medical history and either a parental report or self-report to rule out the presence of chronic or acute diseases.

### **5.2.2 Exclusion criteria**

The presence of secondary obesity and co-morbidities such as diabetes, cardiac, pulmonary and neurological diseases automatically excluded subjects. Obese patients who were receiving any kind of pharmacological treatment were also ineligible. Blood collection was temporally suspended if the subject presented acute disarrangements such as infections.

### **5.2.3 Ethical aspects**

The Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais approved the study. Informed consent was obtained from all included subjects and their parents. The research protocol did not interfere with any medical recommendations or prescriptions. Subject follow-up was guaranteed even in cases of refusal to participate in the study.

### **5.2.4 Study protocol**

At admission, all participants (obese patients and controls) underwent a structured history and physical examination including anthropometric measurements (weight, height, BMI), blood pressure records, abdominal circumference and pubertal stage evaluation. Weight was obtained to the nearest 0.1 Kg using calibrated digital scales. Standing height was considered as the average of three measures, in the nearest millimeter, obtained with a fixed stadiometer with the head aligned in the Frankfort horizontal plane. Abdominal circumference (AC) was obtained by trained pediatric endocrinologists, using a tape measure at just above the uppermost lateral border of the right ileum, at the end of a normal expiration, and was recorded at the nearest millimeter, as recommended by the NCHS anthropometry procedures manual (23). For age adjustment, the AC/height index was used. Subjects were also divided

regarding the presence or absence of arterial hypertension: pre-hypertensive, if systolic and/or diastolic blood pressure were above 90<sup>th</sup> percentile but below 95<sup>th</sup>; hypertensive, if both systolic and diastolic blood pressure were above the 95<sup>th</sup> percentile for age, sex and height on at least three different occasions; and normotensive, if systolic and diastolic blood pressure remained below the 90<sup>th</sup> percentile for age, sex and height (24). Pubertal status was determined according to Tanner criteria (25) and the patients were allocated into 3 groups: pre-pubertal (Tanner's stage I), early-puberty (Tanner's stages II-III) and late-puberty (Tanner's stages IV-V).

### **5.3 Laboratorial analysis**

#### *Blood sampling:*

After informed consent, all subjects (obese patients and controls) were submitted to blood collection for the measurement of fasting glucose, insulin, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, triglycerides, leptin and PAI-1. Blood sampling occurred at two occasions both after an overnight fast of at least 8 hours through peripheral venous puncture. The first collection (overnight fast of 12 hours) was for fasting glucose, insulin, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and leptin measurements, according to standard laboratorial recommendations. The second collection was for PAI-1 measurements due to the need of specific laboratorial procedures. For this purpose, samples were collected into sterile citrate tubes, which were immediately immersed in ice, and processed within 30 minutes after collection. Cells were sedimented by centrifugation at 700 g for 10 minutes at 4°C; then supernatant plasma was collected and re-spun for another 20 minutes at 1300 g to sediment platelets (26). Cell-free plasma was aliquoted into 0.5 ml samples and stored at -80°C until measurements.

#### *Measurements:*

Fasting glucose, cholesterol and triglycerides levels were determined by enzymatic colourimetric assay, while insulin was measured by chemiluminescence (RV: < 29  $\mu$ UI/mL) and leptin by radioimmunoassay (no reference data for children). All measurements followed standard protocols. To estimate insulin resistance, the homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) (27) was calculated.

Plasma PAI-1 levels were measured by specific enzyme-linked immunoassay (ELISA) kit (IMUBIND<sup>®</sup> kit; American Diagnostica Inc.<sup>®</sup>, Stamford, Connecticut, EUA), following the manufacturer's instructions, as described elsewhere (26). All samples were assayed in duplicate in a single assay to avoid inter-assay variation. Our intra-assay variation for the ELISA measurements was below 3% and the detection limits were 1 ng/ml for PAI-1.

### **5.3.1 Statistical analysis**

Statistical analysis was performed using the software Stata<sup>®</sup>, version 10.1. Results were expressed as means  $\pm$  standard error, and 95% confidence interval. Mann-Whitney U-test was used for comparison between groups of continuous variables with either Gaussian or non-Gaussian distribution. All non-Gaussian variables (leptin, insulin, HOMA-IR, triglycerides and PAI-1) were log transformed before applying statistical analysis. Ordinal logistic regression models were constructed to identify variables associated with plasma levels of PAI-1: leptin, HOMA-IR, triglycerides, blood pressure, BMI z-score and AC/height index. The presence or absence of obesity was set as response variable for logistic regression models. The other co-variables of the study (PAI-1, leptin, triglycerides and HOMA-IR) were used as predictors of the obese condition. The level of significance was set at  $p < 0.05$ .

## **5.4 Results**

### **5.4.1 Comparison between obese and controls**

A total of eighty-six children and adolescents were enrolled in the study (mean age of  $10.7 \pm 0.3$  years), 42 male (49%). Subjects were allocated into two groups, obese (n=61, 49% male) and healthy controls (n=25, 48% male), and were also classified according to their pubertal status: pre-pubertal (n=22, 10 boys and 12 girls), early-puberty (n=39, 22 boys, 17 girls) and late-puberty (n=25, 10 boys and 15 girls). Anthropometrical, clinical and laboratorial characteristics are displayed in table 1.

Healthy controls and obese patients were comparable regarding age, sex distribution and Tanner stage. As expected, in the univariate analysis, the obese group presented significant higher BMI z-score, AC/height, blood pressure, insulin levels, HOMA-IR, triglycerides, leptin and PAI-1 in comparison to control group ( $p < 0.05$  for all comparisons, table 1). LDL cholesterol exhibited a tendency to be higher in obese patients than in healthy controls but did not reach statistical significance and fasting glucose levels were similar in both groups.

### **5.4.2 Comparison between genders in obese and controls**

Interestingly, leptin and PAI-1 levels presented gender differences. Indeed, leptin levels were significantly higher in obese females in comparison to the male group ( $p = 0.04$ ). In the control group, females exhibited significantly increased plasma PAI-1 and a tendency for higher leptin levels than males ( $p < 0.05$  and  $p = 0.08$ , respectively) (table 1).

Further analysis showed that, PAI-1 levels in control group were higher in girls only after the beginning of puberty ( $p = 0.008$ ) (data not shown).

### **5.4.3 Puberty progression**

Both obese and control groups were influenced by puberty progression (table 2). Insulin and HOMA-IR seemed to be positively associated to puberty progression in both groups, with higher tendency for obese subjects ( $p=0.04$  and  $p=0.03$  for obese;  $p=0.06$  and  $p=0.09$  for controls, respectively). On the other hand, puberty progression probably exerted an effect on PAI-1 levels only in the control group ( $p=0.05$ ).

### **5.4.4 Associations between PAI-1 and metabolic syndrome components**

The mean value of PAI-1 was  $50.1 \pm 5.4$  ng/dL (range undetectable to 205.1ng/dL), for all subjects. For analysis purpose, values were sorted in four categories based on quartiles distribution. The first quartile included PAI-1 levels ranging from undetectable to 8.3 ng/dL (percentile 25). The next cutoff-points were 33.0 ng/dL (median) and 73.2 ng/dL (percentile 75).

In the univariate analysis using ordered logistic regression, PAI-1 categories presented significant differences between obese and control groups ( $p=0.035$ ) and for the variables BMI z-score ( $p=0.015$ ), AC/height ( $p=0.001$ ), leptin ( $p=0.012$ ), glucose ( $p=0.042$ ), HOMA-IR ( $p=0.026$ ) pubertal progression ( $p=0.004$ ) and triglycerides ( $p=0.044$ ), as shown in table 3.

However, multivariate regression analysis showed that only puberty progression ( $p=0.005$ ) and AC/height index ( $p=0.002$ ) remained as independent predictors of PAI-1 levels (table 4). In a different model, AC/height was substituted by BMI z-score as a measurement of fat mass. Similarly, it remained as an independent predictor of PAI-1 levels ( $p=0.012$ ), accompanied by puberty progression ( $p=0.003$ ).

## 5.5 Discussion

This study shows the early effects of fat mass excess in children and adolescents on circulating PAI-1 levels, which have been considered a putative biomarker for future cardiovascular events (7-10). To date, childhood obesity is a well-recognized risk factor for dyslipidemia, hypertension and insulin resistance in later life (4,5). Additionally, the process of atherosclerosis has been shown to begin at an early age (28), probably involving fibrinolytic disturbances (7). Therefore, the relation between PAI-1 levels and visceral adiposity at early ages is of utmost interest for pediatricians.

Previously, Sudi *et al.* (29), also studying obese children and adolescents divided by pubertal stage, established that maturity was associated with greater adiposity and higher levels of leptin and C-reactive protein (CRP), but insulin and PAI-1 did not differ according to prepubertal, pubertal, and late/postpubertal children. Multiple regression analysis showed that fat mass (evaluated by bioelectrical impedance) contributed to the variation in PAI-1 levels, but other variables, such as gender, maturation, chronological age or leptin levels, were not significantly associated (29). Corroborating these findings, we found that fat mass, evaluated by AC/height and BMI z-score in two distinct models of regression analysis, was a strong and independent predictor of PAI-1 levels.

Convincing evidence shows that PAI-1 is associated with adipose tissue excess, and visceral obesity may be implicated as its major source (7). Differences in PAI-1 secretion by visceral fat compared to subcutaneous fat could be the result of signaling inducers that control the biosynthesis of PAI-1, such as TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  (16-18). Therefore, adipogenesis does not directly induce PAI-1 synthesis. Rather, it enhances the potential of adipocytes to respond to PAI-1 inducers (30). In this context, circulating PAI-1 levels should not be simply considered as a fat mass marker, but rather a reflection of fat redistribution and a putative

biomarker of ectopic fat storage (visceral fat) (8). Indeed, the effect of weight loss on PAI-1 levels has primarily been associated to the reduction of fat mass, since many studies failed to show association between changes in metabolic parameters, as for example, insulin and triglycerides, and improvement in fibrinolytic system (7).

Our results also corroborate to the negative relation between testosterone and PAI-1 levels, which was previously reported by Caron *et al* (31). In our obese and control subjects, PAI-1 levels were higher in females than in males, but the difference only reached statistical significance in healthy controls. A possible explanation for this diverse response in obese and non-obese population could be attributed to the differential effect of other regulatory factors on PAI-1 levels as for instance insulin (32,33), leptin (34), TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  (16-18). Indeed, as testosterone concentrations increase in puberty, we should expect that pubertal male adolescents might have lower levels of PAI-1 than prepubertal ones. However, as insulin and insulin sensitivity are involved in the induction of PAI-1 activity (32), it could be assumed that PAI-1 levels would increase during puberty progression, as there is a physiological increment in insulin concentration and insulin resistance in obese and in non-obese subjects (33). In this study, univariate analysis selected many variables that seemed to influence circulating PAI-1 levels. As a result, puberty progression has proved to be associated to circulating PAI-1 and remained as an independent predictor of their levels. In this regard, the influence of testosterone increment during puberty progression may be less important than metabolic changes (insulin resistance) for PAI-1 regulation.

The higher PAI-1 concentrations we found in healthy females still remains to be elucidated. Studies involving adult populations have showed differences in PAI-1 levels according to gender (7,34,35). While Asselbergs *et al* had found that circulating levels of PAI-1 were positively associated with male gender in a large cross-sectional (34), more recently, Schoenhard *et al.* showed that females have significantly higher levels of PAI-1 than males in

a Ghanaian population (35), which is more comparable to our multi-racial subjects. Further studies also including children and adolescents are necessary to clarify these gender differences in PAI-1 levels.

As for PAI-1, testosterone is found to exert a negative effect on leptin transcription and secretion (while estrogen levels are stimulatory) (36). Accordingly, we have found the highest levels of leptin in females. This result could be due to changes in fat mass and sex steroid levels, since BMI and body fat percentage and distribution seemed to be the most important predictors of leptin levels and bioavailability (37). However, our study was not able to show the influence of puberty progression upon leptin levels. In females, there was a trend of high leptin levels at early stages of puberty ( $p=0.08$ ), but this tendency was not maintained at late-puberty ( $p=0.22$ ). In male gender, leptin levels remained stable during all pubertal stages. This finding could be the result of the lower increase of leptin/receptor ratio throughout puberty in males, as suggested by Martos-Moreno *et al* (38).

We are aware of the limitations of our study. The cross-sectional design itself limited the strength of the analysis, since stronger associations between fibrinolytic and metabolic parameters could appear using a longitudinal study design, as occurred in previous adult series (39-41). We also had difficulties to obtain precise clinical and laboratorial data from healthy controls and, thus, the size of our control group was smaller than obese patients group. Moreover, a better measurement of fat mass (dual energy X-ray absorptiometry), and other markers of insulin sensitivity, as for example adiponectin, should be also evaluated in pediatric series of obese patients. Nevertheless, some aspects of this study may increase the strength of our findings, such as the utilization of strictly defined inclusion and exclusion criteria, the representative number of obese subjects, the rigorous standardized in collecting clinical and laboratorial data and the well-established protocol for the measurements of PAI-1 levels (26).

In conclusion, our findings indicate that childhood obesity may be a pathway to future cardiovascular events, since PAI-1 levels are associated with fat mass accumulation (mainly visceral fat) even at early ages. Puberty progression has proven to be an independent predictor of PAI-1 levels. Metabolic parameters, such as triglycerides, insulin or HOMA-IR, failed to show a direct linkage to fibrinolytic disorders in childhood. The mechanisms involved in the elevation of PAI-1 levels by obese patients remain to be elucidated. Further studies are necessary to evaluate whether other well-known adipokines, such as TGF- $\beta$  and TNF- $\alpha$ , may mediate the disarrangement of the fibrinolytic system, thus increasing cardiovascular risk since early ages.

## **5.6 References**

1. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation. Technical Report Series 894. Geneva, 2000.
2. Freedman DS, Khan LK, Serdula MK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. The relation of childhood BMI to adult adiposity: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*. 2005 Jan;115(1):22-7.
3. Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med*. 1997 Sep 25;337(13):869-73.
4. Lee WW. An overview of pediatric obesity. *Pediatr Diabetes*. 2007 Dec;8 Suppl 9:76-87.
5. Speiser PW, Rudolf MC, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, *et al*. Childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Mar;90(3):1871-87.
6. Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation*. 1998 Jun 2;97(21):2099-100.

7. Mertens I, Van Gaal LF. Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system. *Obes Rev.* 2002 May;3(2):85-101.
8. Alessi MC, Poggi M, Juhan-Vague I. Plasminogen activator inhibitor-1, adipose tissue and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol.* 2007 Jun;18(3):240-5.
9. Caballero AE, Bousquet-Santos K, Robles-Osorio L, Montagnani V, Soodini G, Porramatikul S, *et al.* Overweight Latino children and adolescents have marked endothelial dysfunction and subclinical vascular inflammation in association with excess body fat and insulin resistance. *Diabetes Care.* 2008 Mar;31(3):576-82.
10. Valle Jiménez M, Estepa RM, Camacho RM, Estrada RC, Luna FG, Guitarte FB. Endothelial dysfunction is related to insulin resistance and inflammatory biomarker levels in obese prepubertal children. *Eur J Endocrinol.* 2007 Apr;156(4):497-502.
11. Vague P, Juhan-Vague I, Aillaud MF, Badier C, Viard R, Alessi MC, *et al.* Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor level, plasma insulin level, and relative body weight in normal and obese subjects. *Metabolism.* 1986 Mar;35(3):250-3.
12. Sudi KM, Gallistl S, Weinhandl G, Muntean W, Borkenstein MH. Relationship between plasminogen activator inhibitor-1 antigen, leptin, and fat mass in obese children and adolescents. *Metabolism.* 2000 Jul;49(7):890-5.
13. Cigolini M, Targher G, Bergamo Andreis IA, Tonoli M, Agostino G, *et al.* Visceral fat accumulation and its relation to plasma hemostatic factors in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 Mar;16(3):368-74.
14. Ferguson MA, Gutin B, Owens S, Litaker M, Tracy RP, Allison J. Fat distribution and hemostatic measures in obese children. *Am J Clin Nutr.* 1998 Jun;67(6):1136-40.

15. Janand-Delenne B, Chagnaud C, Raccach D, Alessi MC, Juhan-Vague I, Vague P. Visceral fat as a main determinant of plasminogen activator inhibitor 1 level in women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998 Apr;22(4):312-7.
16. Cigolini M, Tonoli M, Borgato L, Frigotto L, Manzato F, Zeminian S, *et al*. Expression of plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue: a role for TNF-alpha? *Atherosclerosis*. 1999 Mar;143(1):81-90.
17. Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbone G, Juhan-Vague I. Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue. *Diabetes*. 1997;46:860–867.
18. Birgel M, Gottschling-Zeller H, Röhrig K, Hauner H. Role of cytokines in the regulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in newly differentiated subcutaneous human adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jun;20(6):1682-7.
19. Halleux CM, Declerck PJ, Tran SL, Detry R, Brichard SM. Hormonal control of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and production in human adipose tissue: stimulation by glucocorticoids and inhibition by catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Nov;84(11):4097-105.
20. De Mitrio V, De Pergola G, Vettor R, Marino R, Sciaraffia M, Pagano C, *et al*. Plasma plasminogen activator inhibitor-I is associated with plasma leptin irrespective of body mass index, body fat mass, and plasma insulin and metabolic parameters in premenopausal women. *Metabolism*. 1999 Aug;48(8):960-4.
21. Söderberg S, Olsson T, Eliasson M, Johnson O, Ahrén B. Plasma leptin levels are associated with abnormal fibrinolysis in men and postmenopausal women. *J Intern Med*. 1999 May;245(5):533-43.
22. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Mei Z, *et al*. CDC growth charts: United States. Advance data from vital and health statistics, no. 314. Hyattsville (MD): National Center for Health Statistics; 2000.

23. Centers for Disease Control and Prevention [<http://www.cdc.gov>]. National Health and Nutrition Examination Survey. Anthropometry Procedures Manual; 2002. Available from: <http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/bm.pdf>
24. 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. *Pediatrics*. 2004 Aug;114(2 Suppl 4th Report):555-76.
25. Tanner JM. Growth at adolescence. 2<sup>a</sup> ed. Oxford: Blackwell Scientific. 21:1440–1448.
26. Declerck PJ, Alessi MC, Verstreken M, Kruithof EK, Juhan-Vague I, Collen D. Measurement of plasminogen activator inhibitor 1 in biologic fluids with a murine monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood*. 1988 Jan;71(1):220-5.
27. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412-9.
28. Freedman DS, Dietz WH, Tang R, Mensah GA, Bond MG, Urbina EM, *et al*. The relation of obesity throughout life to carotid intima-media thickness in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Jan;28(1):159-66.
29. Sudi KM, Gallistl S, Weinhandl G, Muntean W, Borkenstein MH. Relationship between plasminogen activator inhibitor-1 antigen, leptin, and fat mass in obese children and adolescents. *Metabolism*. 2000 Jul;49(7):890-5.
30. Venugopal J, Hanashiro K, Nagamine Y. Regulation of PAI-1 gene expression during adipogenesis. *J Cell Biochem*. 2007 May 15;101(2):369-80.
31. Caron P, Bennet A, Camare R, Louvet JP, Boneu B, Sié P. Plasminogen activator inhibitor in plasma is related to testosterone in men. *Metabolism*. 1989 Oct;38(10):1010-5.

32. Nordt TK, Sawa H, Fujii S, Sobel BE. Induction of plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1) by proinsulin and insulin in vivo. *Circulation*. 1995 Feb 1;91(3):764-70.
33. Smith CP, Archibald HR, Thomas JM, Tarn AC, Williams AJ, Gale EA, *et al*. Basal and stimulated insulin levels rise with advancing puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988 Jan;28(1):7-14.
34. Asselbergs FW, Williams SM, Hebert PR, Coffey CS, Hillege HL, Navis G, *et al*. Gender-specific correlations of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue plasminogen activator levels with cardiovascular disease-related traits. *J Thromb Haemost*. 2007 Feb;5(2):313-20.
35. Schoenhard JA, Asselbergs FW, Poku KA, Stocki SA, Gordon S, Vaughan DE, *et al*. Male-female differences in the genetic regulation of t-PA and PAI-1 levels in a Ghanaian population. *Hum Genet*. 2008 Dec;124(5):479-88.
36. Wabitsch M, Blum WF, Muche R, Braun M, Hube F, Rascher W, *et al*. Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J Clin Invest*. 1997 Aug 15;100(4):808-13.
37. Misra M, Miller KK, Almazan C, Ramaswamy K, Aggarwal A, Herzog DB, *et al*. Hormonal and body composition predictors of soluble leptin receptor, leptin, and free leptin index in adolescent girls with anorexia nervosa and controls and relation to insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jul;89(7):3486-95.
38. Martos-Moreno GA, Barrios V, Argente J. Normative data for adiponectin, resistin, interleukin 6, and leptin/receptor ratio in a healthy Spanish pediatric population: relationship with sex steroids. *Eur J Endocrinol*. 2006 Sep;155(3):429-34.
39. Hämaläinen H, Rönnemaa T, Virtanen A, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, *et al*. Improved fibrinolysis by an intensive lifestyle intervention in subjects with impaired

glucose tolerance. The Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetologia*. 2005 Nov;48(11):2248-53.

40. Festa A, Williams K, Tracy RP, Wagenknecht LE, Haffner SM. Progression of plasminogen activator inhibitor-1 and fibrinogen levels in relation to incident type 2 diabetes. *Circulation*. 2006 Apr 11;113(14):1753-9.
41. Meigs JB, O'donnell CJ, Tofler GH, Benjamin EJ, Fox CS, Lipinska I, *et al*. Hemostatic markers of endothelial dysfunction and risk of incident type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes*. 2006 Feb;55(2):530-7.

## Tables

**Table 1.** Clinical and laboratorial characteristics in both study groups (obese and controls).

| Characteristics and measurements | Obese group (n = 61) |             |                       |             | Controls (n = 25) |              |                       |              | <i>P</i> <sup>‡</sup> |
|----------------------------------|----------------------|-------------|-----------------------|-------------|-------------------|--------------|-----------------------|--------------|-----------------------|
|                                  | M                    | F           | <i>P</i> <sup>†</sup> | All         | M                 | F            | <i>P</i> <sup>†</sup> | All          |                       |
| N                                | 30                   | 31          | -                     | 61          | 12                | 13           | -                     | 25           | -                     |
| Age (y)                          | 11.3 ± 0.5           | 9.8 ± 0.5   | 0.04                  | 10.5 ± 0.4  | 11.0 ± 0.9        | 11.0 ± 0.6   | 0.66                  | 11.0 ± 0.5   | 0.50                  |
| Tanner stage (I/II-III/IV-V)     | 5/17/8               | 10/12/9     | -                     | 15/29/17    | 5/5/2             | 2/5/6        | -                     | 7/10/8       | -                     |
| BMI z-score                      | 2.17 ± 0.07          | 2.06 ± 0.06 | 0.43                  | 2.12 ± 0.05 | -0.74 ± 0.30      | -0.08 ± 0.28 | 0.06                  | -0.40 ± 0.21 | <0.001                |
| AC/height                        | 0.63 ± 0.01          | 0.61 ± 0.01 | 0.19                  | 0.62 ± 0.01 | 0.44 ± 0.01       | 0.47 ± 0.01  | 0.04                  | 0.46 ± 0.01  | <0.001                |
| Normal BP (n)                    | 20 (66.7%)           | 23 (74.2%)  | 0.58                  | 43 (70.5%)  | 12 (100%)         | 13 (100%)    | -                     | 25 (100%)    | 0.002                 |
| Pre-hypertensive (n)             | 1 (3.3%)             | 3 (9.7%)    | 0.61                  | 4 (6.6%)    | 0                 | 0            | -                     | 0            | 0.57                  |
| Hypertensive (n)                 | 9 (30.0%)            | 5 (16.1%)   | 0.24                  | 14 (22.9%)  | 0                 | 0            | -                     | 0            | 0.008                 |
| Glucose (mg/dL)                  | 83.7 ± 1.5           | 83.0 ± 1.1  | 0.53                  | 83.4 ± 0.9  | 91.2 ± 4.8        | 86.0 ± 3.0   | 0.72                  | 88.4 ± 2.7   | 0.10                  |
| Insulin (μU/mL)                  | 14.2 ± 4.7           | 20.5 ± 4.6  | 0.11                  | 17.2 ± 3.3  | 3.1 ± 1.1         | 6.1 ± 1.3    | 0.04                  | 4.7 ± 0.9    | 0.002                 |
| HOMA-IR                          | 3.2 ± 1.2            | 4.3 ± 1.0   | 0.11                  | 3.7 ± 0.8   | 0.7 ± 0.3         | 1.4 ± 0.3    | 0.08                  | 1.1 ± 0.2    | 0.005                 |
| Leptin (ng/mL)*                  | 13.6 ± 1.1           | 20.8 ± 2.0  | 0.04                  | 17.4 ± 1.2  | 3.3 ± 1.0         | 8.6 ± 1.9    | 0.08                  | 6.0 ± 1.2    | 0.0001                |
| PAI-1 (ng/mL)                    | 59.0 ± 9.1           | 58.4 ± 10.9 | 0.55                  | 58.7 ± 7.0  | 9.7 ± 6.1         | 48.0 ± 6.9   | 0.0006                | 29.6 ± 6.0   | 0.019                 |
| HDL Cholesterol (mg/dL)          | 45.0 ± 1.7           | 46.6 ± 2.0  | 0.73                  | 45.8 ± 1.3  | 54.4 ± 2.4        | 53.8 ± 4.1   | 0.62                  | 54.1 ± 2.4   | 0.003                 |
| LDL Cholesterol (mg/dL)          | 91.3 ± 5.9           | 96.4 ± 4.5  | 0.72                  | 93.9 ± 3.9  | 90.8 ± 7.4        | 81.4 ± 4.3   | 0.43                  | 85.7 ± 4.1   | 0.07                  |
| Triglycerides (mg/dL)            | 85.0 ± 9.4           | 89.1 ± 6.3  | 0.17                  | 87.1 ± 5.6  | 42.8 ± 4.6        | 68.4 ± 9.4   | 0.02                  | 56.8 ± 5.9   | 0.001                 |

Data are presented as the mean ± SD.

\* Leptin values were available only for 48 subjects (34 obese and 14 controls).

† *P* values for the gender differences in each group.

‡ *P* values for the obese and control groups differences.

**Table 2.** Laboratory data for obese and control groups, according to Tanner puberty stage.

| <b>Obese group</b>     |             |               |             |              |          |
|------------------------|-------------|---------------|-------------|--------------|----------|
|                        | Tanner I    | Tanner II-III | Tanner IV-V | All obese    | <i>P</i> |
| <b>N</b>               | 15          | 29            | 17          | 61           |          |
| <b>Insulin (μU/mL)</b> | 20.4 ± 6.9  | 11.9 ± 3.8    | 23.7 ± 7.7  | 17.2 ± 3.3   | 0.0449   |
| <b>HOMA-IR</b>         | 4.2 ± 1.4   | 2.6 ± 0.8     | 5.4 ± 2.0   | 3.7 ± 0.8    | 0.0392   |
| <b>Leptin (ng/mL)</b>  | 14.9 ± 2.5  | 18.4 ± 1.9    | 18.4 ± 2.2  | 17.4 ± 1.2   | 0.5408   |
| <b>PAI-1 (ng/mL)</b>   | 39.8 ± 13.7 | 61.1 ± 9.3    | 71.5 ± 15.2 | 58.7 ± 7.0   | 0.1667   |
| <b>Control group</b>   |             |               |             |              |          |
|                        | Tanner I    | Tanner II-III | Tanner IV-V | All controls | <i>P</i> |
| <b>N</b>               | 7           | 10            | 8           | 25           |          |
| <b>Insulin (μU/mL)</b> | 2.5 ± 1.2   | 3.9 ± 1.0     | 8.1 ± 1.9   | 4.7 ± 0.9    | 0.0663   |
| <b>HOMA-IR</b>         | 0.5 ± 0.3   | 0.9 ± 0.2     | 1.8 ± 0.4   | 1.1 ± 0.2    | 0.0913   |
| <b>Leptin (ng/mL)</b>  | 2.2 ± 0.4   | 5.8 ± 1.3     | 12.4 ± 3.4  | 6.0 ± 1.2    | 0.1713   |
| <b>PAI-1 (ng/mL)</b>   | 11.5 ± 7.3  | 27.2 ± 10.2   | 48.0 ± 9.3  | 29.6 ± 6.0   | 0.0561   |

Data are presented as the mean ± SD.

**Table 3.** Univariate analysis: association between PAI-1 and clinical and laboratorial characteristics.

| <b>Variable</b>               | <b>Coefficient</b> | <b>OR</b> | <b>Inf. OR<br/>95% CI</b> | <b>Sup. OR<br/>95% CI</b> | <b>p-value</b> |
|-------------------------------|--------------------|-----------|---------------------------|---------------------------|----------------|
| <b>Obesity</b>                | 0.904              | 2.469     | 1.056                     | 5.772                     | 0.035          |
| <b>Sex</b>                    | 0.433              | 1.542     | 0.717                     | 3.314                     | 0.266          |
| <b>Tanner<br/>progression</b> | 0.771              | 2.162     | 1.260                     | 3.710                     | 0.004          |
| <b>Age</b>                    | 0.117              | 1.125     | 0.972                     | 1.301                     | 0.108          |
| <b>BMI z-score</b>            | 0.369              | 1.446     | 1.065                     | 1.963                     | 0.015          |
| <b>AC/height*</b>             | 0.732              | 2.080     | 1.309                     | 3.305                     | 0.001          |
| <b>Hypertension</b>           | 0.936              | 2.549     | 0.881                     | 7.379                     | 0.081          |
| <b>Glucose</b>                | -0.045             | 0.956     | 0.914                     | 0.999                     | 0.042          |
| <b>Leptin**</b>               | 0.722              | 2.058     | 1.142                     | 3.710                     | 0.012          |
| <b>HOMA-IR**</b>              | 0.299              | 1.348     | 1.030                     | 1.764                     | 0.026          |
| <b>Triglycerides**</b>        | 0.841              | 2.318     | 1.012                     | 5.312                     | 0.044          |
| <b>HDL cholesterol</b>        | -0.021             | 0.979     | 0.946                     | 1.013                     | 0.221          |
| <b>LDL cholesterol</b>        | -0.005             | 0.995     | 0.981                     | 1.010                     | 0.523          |

\* Original value multiplied by ten. \*\* Log transformed variable.

**Table 4.** Multivariate analysis: association of PAI-1 and other characteristics.

| <b>Variable</b>               | <b>Coefficient</b> | <b>OR</b> | <b>Inf. OR<br/>95% CI</b> | <b>Sup. OR<br/>95% CI</b> | <b>p-value</b> |
|-------------------------------|--------------------|-----------|---------------------------|---------------------------|----------------|
| <b>Tanner<br/>progression</b> | 0.804              | 2.236     | 1.234                     | 3.924                     | 0.005          |
| <b>AC/height*</b>             | 0.732              | 2.079     | 1.296                     | 3.336                     | 0.002          |

\*Original value multiplied by ten.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A obesidade na infância e adolescência é considerada um fator de risco para doenças cardiovasculares na vida adulta (1,2). Diversos biomarcadores têm sido avaliados em pacientes obesos no intuito de associá-los a eventos cardiovasculares futuros (3-5). Nesse contexto, tem-se estudado extensivamente o papel do PAI-1 na associação com a obesidade, a resistência à insulina e a síndrome metabólica (6-9). Em pacientes adultos, os níveis circulantes de PAI-1 estão associados com o acúmulo de gordura visceral e com a síndrome metabólica (10). Estudos *in vitro* têm mostrado que as células endoteliais, os hepatócitos e os adipócitos, quando estimulados por diversas adipocinas, aumentam a produção de PAI-1 e dão suporte à associação entre a hipofibrinólise e a obesidade (11-16). Apesar do grande número de trabalhos envolvendo PAI-1 e obesidade em adultos, são poucos os estudos que mostram a associação entre esse fator e o acúmulo de tecido adiposo em idades mais precoces (8,17-19). Além disso, ainda não foram comprovadas na infância as inter-relações entre os níveis circulantes de PAI-1 e os componentes da síndrome metabólica, adipocinas e marcadores de inflamação, já bem estabelecidas em pacientes adultos (6).

Nesse sentido, o presente estudo mostra os efeitos precoces do excesso de massa adiposa sobre os níveis circulantes de PAI-1 em crianças e adolescentes. Assim como o processo de aterosclerose, o estado de hipofibrinólise (representado pelo aumento dos níveis de PAI-1) está presente desde a infância, em vigência de excesso de tecido adiposo, principalmente visceral (6,20). Levando-se em conta a não existência de uma definição universalmente aceita para avaliação da gordura corporal na infância (2), a medida da circunferência abdominal mostrou-se um método fácil e com boa reprodutibilidade para estimar o acúmulo de gordura visceral no presente estudo. Adicionalmente, em função dos valores de referência para percentis de idade e sexo não serem ainda bem definidos na

literatura, uma alternativa para a análise foi avaliar a relação circunferência abdominal / estatura e sua relação com os níveis de PAI-1. Tal parâmetro, assim como o IMC (em um modelo diferente de análise), apresentou associação positiva e independente com os níveis de PAI-1.

A categorização da amostra estudada por estágios de Tanner permitiu o estudo da influência da puberdade sobre os biomarcadores avaliados. Pela primeira vez, a progressão da puberdade mostrou-se como preditor independente dos níveis de PAI-1. O aumento fisiológico da resistência à insulina, que sabidamente ocorre tanto em obesos quanto nos controles, de acordo com o avanço na maturação sexual (21), poderia ser uma explicação para esse achado, o que provavelmente superou os efeitos inibitórios da testosterona sobre os níveis de PAI-1. De fato, era de se esperar que, no sexo masculino, os níveis de PAI-1 pudessem sofrer a influência negativa do aumento dos níveis de testosterona, conforme o avanço da puberdade, o que não aconteceu. Ressalta-se, porém, que a regulação dos níveis circulantes de PAI-1 é bastante complexa e sofre influência de múltiplos mediadores, tais como, por exemplo, TGF- $\beta$  e TNF- $\alpha$  (11-13).

A leptina, no entanto, não sofreu influência da progressão puberal. No sexo feminino, houve uma tendência de aumento dos seus níveis no período puberal inicial ( $p=0,08$ ), mas sem uma confirmação nos estágios mais avançados de Tanner ( $p=0,22$ ). No sexo masculino, os níveis de leptina não se modificaram conforme a progressão puberal. Assim como o PAI-1, esperava-se que os níveis de leptina sofressem uma influência negativa do aumento da concentração de testosterona. Como sugerido por Martos-Moreno (22), a ausência desse efeito pode ser o resultado da menor relação leptina/receptor de leptina nos púberes masculinos.

Assim como PAI-1, as variáveis insulina, triglicérides, leptina, HOMA-IR e pressão arterial mostraram associação positiva com a obesidade nas crianças e adolescentes. Apesar de nenhuma destas variáveis ter apresentado associação independente com os níveis de PAI-1,

comprovam-se mais uma vez os efeitos precoces do acúmulo de tecido adiposo, elevando o risco de diabetes mellitus tipo 2 e de eventos cardiovasculares.

Como limitações deste trabalho, o desenho do estudo (transversal) e o número limitado de controles podem reduzir a força da análise estatística. Por outro lado, estudos longitudinais sobre hipofibrinólise e obesidade, envolvendo um maior número de pacientes, são muito escassos na faixa etária pediátrica (23). Tais estudos poderiam ainda envolver algum tipo de intervenção, comportamental ou farmacológica, para avaliar os efeitos de perda de peso (e diferenças da distribuição de tecido adiposo) sobre marcadores de hipofibrinólise e adipocinas. Ressalta-se ainda que a estimativa da massa adiposa, avaliada neste estudo pelo IMC e pela relação circunferência abdominal / estatura, poderá futuramente ser mais bem estudada por meio da densitometria computadorizada por absorptometria radiológica de dupla energia (DEXA). Além disso, são necessárias referências pediátricas representativas de curvas de circunferência abdominal, ainda escassas e limitadas na literatura (24). Apesar dessas reconhecidas limitações, alguns aspectos deste trabalho reforçam seus achados, tais como a utilização de critérios de inclusão e de exclusão bastante rigorosos, o número representativo de pacientes obesos, a padronização da coleta de dados clínicos e laboratoriais bem como a utilização de protocolo bem estabelecido para mensuração dos níveis circulantes de PAI-1.

A continuação deste estudo pode incluir futuramente a dosagem de marcadores de disfunção hemostática e endotelial, como o fibrinogênio, o fator VIII, o fator de von Willebrand e os níveis solúveis da molécula de adesão intercelular-1 (sICAM-1), pouco estudados na infância, mas também relacionadas à obesidade e componentes da síndrome metabólica em adultos (6). Destacam-se ainda outros componentes do sistema fibrinolítico, como os fatores ativadores do plasminogênio tipo tecidual (t-PA) e tipo uroquinase (u-PA), cujas determinações podem acrescentar, juntamente com avaliação de outras adipocinas e marcadores inflamatórios (adiponectina, TGF- $\beta$  e TNF- $\alpha$ ), informações que ajudem a elucidar

aspectos fisiopatológicos ainda não conhecidos sobre os efeitos da obesidade sobre o risco cardiovascular.

Outra importante vertente que se abre por esta linha de pesquisa diz respeito ao estudo dos aspectos moleculares que relacionam obesidade e hipofibrinólise. Nesse sentido, alguns estudos têm demonstrado uma relação positiva entre as concentrações séricas de PAI-1 e polimorfismos genéticos -675 4G / 5G da região promotora do gene do PAI-1, localizado no cromossomo 7 (25-27). No entanto, na população pediátrica, os resultados ainda são discordantes (23,28-30). Um interessante trabalho envolvendo adultos mostrou que apenas os pacientes com obesidade predominantemente visceral apresentam correlação entre o genótipo e os níveis circulantes de PAI-1, com os maiores níveis na distribuição genotípica 4G / 4G (25). Também na população pediátrica, a presença do alelo 4G, tanto na forma heterozigota quanto na homozigota, aumentou o risco de doença cardiovascular numa população de crianças turcas (29). O estudo genético de crianças e adolescentes, com a avaliação de polimorfismos de genes de adipocinas, marcadores de inflamação e de hipofibrinólise, abre perspectivas para a identificação, a partir de uma correlação geno-fenotípica e laboratorial, de um padrão de crianças e adolescentes que apresentam maior risco cardiovascular futuro e que se beneficiariam de medidas preventivas.

A continuação dos estudos envolvendo as adipocinas, seus receptores e os genes responsáveis pela sua expressão é de fundamental importância nesse contexto, de forma a revelar as funções do tecido adiposo e a sua relação com a homeostase e o balanço de energia, além de outros sistemas fisiológicos, incluindo o fibrinolítico. Enfim, o entendimento do tecido adiposo como órgão endócrino pode permitir abordagens terapêuticas eficazes sobre as consequências metabólicas do excesso de gordura.

Como conclusão, este estudo caracteriza a obesidade na infância e adolescência como preditora de eventos cardiovasculares futuros, ao demonstrar que os níveis circulantes de PAI-

1 estão associados com o acúmulo de gordura (principalmente visceral) desde idades precoces da vida. Pela primeira vez, a progressão da puberdade mostrou-se um fator preditor independente dos níveis de PAI-1. Ressalta-se, no entanto, que estudos adicionais são necessários para uma maior elucidação dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia dos distúrbios fibrinolíticos na obesidade.

## **6.1 Referências Bibliográficas**

1. Lee WW. An overview of pediatric obesity. *Pediatr Diabetes*. 2007 Dec;8 Suppl 9:76-87.
2. Speiser PW, Rudolf MC, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, *et al*. Childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005 Mar;90(3):1871-87.
3. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2548-56.
4. Sbarbati A, Osculati F, Silvagni D, Benati D, Galiè M, Camoglio FS, *et al*. Obesity and inflammation: evidence for an elementary lesion. *Pediatrics*. 2006 Jan;117(1):220-3.
5. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab*. 2000 Oct;11(8):327-32.
6. Mertens I, Van Gaal LF. Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system. *Obes Rev*. 2002 May;3(2):85-101.
7. Alessi MC, Poggi M, Juhan-Vague I. Plasminogen activator inhibitor-1, adipose tissue and insulin resistance. *Curr Opin Lipidol*. 2007 Jun;18(3):240-5.
8. Caballero AE, Bousquet-Santos K, Robles-Osorio L, Montagnani V, Soodini G, Porramatikul S, *et al*. Overweight Latino children and adolescents have marked endothelial dysfunction and subclinical vascular inflammation in association with excess body fat and insulin resistance. *Diabetes Care*. 2008 Mar;31(3):576-82.
9. Valle Jiménez M, Estepa RM, Camacho RM, Estrada RC, Luna FG, Guitarte FB. Endothelial dysfunction is related to insulin resistance and inflammatory biomarker levels in obese prepubertal children. *Eur J Endocrinol*. 2007 Apr;156(4):497-502.
10. Cigolini M, Targher G, Bergamo Andreis IA, Tonoli M, Agostino G, *et al*. Visceral fat accumulation and its relation to plasma hemostatic factors in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996 Mar;16(3):368-74.

11. Cigolini M, Tonoli M, Borgato L, Frigotto L, Manzato F, Zeminian S, *et al.* Expression of plasminogen activator inhibitor-1 in human adipose tissue: a role for TNF-alpha? *Atherosclerosis*. 1999 Mar;143(1):81-90.
12. Alessi MC, Peiretti F, Morange P, Henry M, Nalbone G, Juhan-Vague I. Production of plasminogen activator inhibitor 1 by human adipose tissue. *Diabetes*. 1997;46:860–867.
13. Birgel M, Gottschling-Zeller H, Röhrig K, Hauner H. Role of cytokines in the regulation of plasminogen activator inhibitor-1 expression and secretion in newly differentiated subcutaneous human adipocytes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 Jun;20(6):1682-7.
14. Halleux CM, Declerck PJ, Tran SL, Detry R, Brichard SM. Hormonal control of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and production in human adipose tissue: stimulation by glucocorticoids and inhibition by catecholamines. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Nov;84(11):4097-105.
15. De Mitrio V, De Pergola G, Vettor R, Marino R, Sciaraffia M, Pagano C, *et al.* Plasma plasminogen activator inhibitor-I is associated with plasma leptin irrespective of body mass index, body fat mass, and plasma insulin and metabolic parameters in premenopausal women. *Metabolism*. 1999 Aug;48(8):960-4.
16. Söderberg S, Olsson T, Eliasson M, Johnson O, Åhrén B. Plasma leptin levels are associated with abnormal fibrinolysis in men and postmenopausal women. *J Intern Med*. 1999 May;245(5):533-43.
17. Valle Jiménez M, Estepa RM, Camacho RM, Estrada RC, Luna FG, Guitarte FB. Endothelial dysfunction is related to insulin resistance and inflammatory biomarker levels in obese prepubertal children. *Eur J Endocrinol*. 2007 Apr;156(4):497-502.
18. Vague P, Juhan-Vague I, Aillaud MF, Badier C, Viard R, Alessi MC, *et al.* Correlation between blood fibrinolytic activity, plasminogen activator inhibitor level, plasma insulin

- level, and relative body weight in normal and obese subjects. *Metabolism*. 1986 Mar;35(3):250-3.
19. Sudi KM, Gallistl S, Weinhandl G, Muntean W, Borkenstein MH. Relationship between plasminogen activator inhibitor-1 antigen, leptin, and fat mass in obese children and adolescents. *Metabolism*. 2000 Jul;49(7):890-5.
  20. Freedman DS, Dietz WH, Tang R, Mensah GA, Bond MG, Urbina EM, *et al*. The relation of obesity throughout life to carotid intima-media thickness in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004 Jan;28(1):159-66.
  21. Smith CP, Archibald HR, Thomas JM, Tarn AC, Williams AJ, Gale EA, *et al*. Basal and stimulated insulin levels rise with advancing puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988 Jan;28(1):7-14.
  22. Martos-Moreno GA, Barrios V, Argente J. Normative data for adiponectin, resistin, interleukin 6, and leptin/receptor ratio in a healthy Spanish pediatric population: relationship with sex steroids. *Eur J Endocrinol*. 2006 Sep;155(3):429-34.
  23. Estellés A, Dalmau J, Falcó C, Berbel O, Castelló R, España F, *et al*. Plasma PAI-1 levels in obese children--effect of weight loss and influence of PAI-1 promoter 4G/5G genotype. *Thromb Haemost*. 2001 Aug;86(2):647-52.
  24. Fernández JR, Redden DT, Pietrobelli A, Allison DB. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-American, European-American, and Mexican-American children and adolescents. *J Pediatr*. 2004 Oct;145(4):439-44.
  25. Sartori MT, Vettor R, De Pergola G, De Mitrio V, Saggiorato G, Della Mea P, *et al*. Role of the 4G/5G polymorphism of PaI-1 gene promoter on PaI-1 levels in obese patients: influence of fat distribution and insulin-resistance. *Thromb Haemost*. 2001 Nov;86(5):1161-9.

26. Corsetti JP, Ryan D, Moss AJ, Rainwater DL, Zareba W, Sparks CE. Plasminogen activator inhibitor-1 polymorphism (4G/5G) predicts recurrence in nonhyperlipidemic postinfarction patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008 Mar;28(3):548-54.
27. Sarecka B, Zak I, Krauze J. Synergistic effects of the polymorphisms in the PAI-1 and IL-6 genes with smoking in determining their associated risk with coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2008 May;41(7-8):467-73.
28. Kinik ST, Ataç FB, Verdi H, Cetintaş S, Sahin FI, Ozbek N. The effect of plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism on glucose and lipid metabolisms in Turkish obese children. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005 May;62(5):607-10.
29. Berberoğlu M, Evliyaoğlu O, Adıyaman P, Ocal G, Ulukol B, Simşek F, *et al.* Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene polymorphism (-675 4G/5G) associated with obesity and vascular risk in children. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2006 May;19(5):741-8.

## 7 ANEXOS

### **Anexo I - Termo de consentimento pós-informação, conforme resolução nº 196/96 sobre pesquisa envolvendo seres humanos.**

#### ***Carta aos pais e pacientes***

**Srs. pais ou responsáveis pelo menor paciente:** \_\_\_\_\_

*Esta pesquisa tem a proposta de correlacionar aspectos clínicos e laboratoriais de crianças e adolescentes obesos, procurando estabelecer inter-relações com outros fatores de risco cardiovascular.*

A obesidade infantil tem aumentado progressivamente nos últimos anos. Esse grande aumento tem sido explicado pelos fatores nutricionais, mudanças de hábito alimentar, sobretudo nos adolescentes como o consumo excessivo de lanches e guloseimas, associado com a falta de atividade física, (grande número de horas com televisão, videogame e computador).

Nos últimos anos, várias citocinas e mediadores da resposta inflamatória (interleucinas, fator de necrose tumoral do tipo alfa, fator de transformação e crescimento do tipo beta, leptina, adiponectina, etc) têm sido relacionados à presença de obesidade e, portanto, também relacionados à ocorrência de problemas cardiovasculares na vida adulta.

A acantose *nigricans* é uma alteração de textura e pigmentação (cor) da pele, principalmente nas regiões cervical (do pescoço) e axilar, que em obesos adultos tem sido relacionada a dislipidemias (alterações no padrão do colesterol, triglicerídeos, lipoproteínas) e resistência insulínica (necessidade maior que a normal de insulina para transformar açúcares em formas de energia). Conseqüentemente, nota-se um aumento do diabetes tipo 2 nesta faixa etária, o que era raro há alguns anos.

Estamos desenvolvendo um trabalho de pesquisa utilizando exames laboratoriais habitualmente pedidos neste grupo de crianças e adolescentes obesos, para que possamos estudar essas associações com dados no nosso meio. Uma vez determinadas essas relações, podem ser estabelecidos parâmetros que permitirão ao médico intervir de forma preventiva e precoce, ainda na infância, no sentido de reduzir a ocorrência dessas doenças na vida adulta. Além disso, abre-se uma nova perspectiva em relação ao tratamento das complicações relacionadas à obesidade, seja na infância ou na idade adulta.

Solicitamos a autorização para a inclusão do (a) seu (sua) filho (a) (ou dependente) nesta pesquisa e utilização dos resultados dos seus exames de rotina (colesterol total e frações, triglicérides, apoproteína A1 e B, lipoproteína A, IGF-I, IGF-II, ácido úrico, proteína C-reativa, hemograma, ferritina, glicemia e insulina de jejum e 2 horas após dextrosol, TSH, T4 livre e Doppler de carótida). Serão necessários ainda a coleta de sangue para a dosagem das citocinas e marcadores da inflamação, exames especiais realizados no laboratório de Pesquisa da Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Faculdade de Medicina da UFMG e no Laboratório de Imunofarmacologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG.

Poderá ocorrer a solicitação de fotografias das alterações de pele (sem a exposição do rosto) que só serão realizadas e utilizadas com o seu consentimento. Queremos esclarecer que os fins são estritamente científicos e salientar que a identidade do paciente será preservada em todos os seus aspectos. Somente os pesquisadores envolvidos no projeto terão acesso aos

dados, ficando assim garantida a confidencialidade das informações obtidas. Os resultados da pesquisa serão tornados públicos através de publicação em periódicos e apresentação em congressos. Será mantido o anonimato do paciente participante da pesquisa e dos seus pais. Os resultados obtidos não serão utilizados para outros fins senão os estritamente relacionados aos objetivos do projeto.

Havendo concordância, solicitamos que assine o termo de consentimento em anexo.

A não autorização não trará nenhum prejuízo para a criança no atendimento endocrinológico. Os responsáveis pela pesquisa estão à sua disposição para esclarecer qualquer dúvida existente.

### **TERMO DE CONSENTIMENTO**

Eu, \_\_\_\_\_, pai/mãe (responsável) do menor \_\_\_\_\_, declaro que ouvi (ou li) e entendi o que está explicado na carta aos pais e pacientes e aos esclarecimentos que me foram prestados pessoalmente. Autorizo meu (minha) filho(a) (ou dependente) a participar desta pesquisa utilizando resultados de exames clínico e laboratoriais realizados.

As razões e motivos da realização destes exames foram explicados de maneira clara e entendidos por mim. Estou ciente de que não sou obrigado a dar essa autorização e, se o faço, não me sinto coagido a fazê-lo. Além disso, a não autorização não trará nenhum prejuízo para meu filho(a) no atendimento endocrinológico a ele(a) prestado.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável (nome legível)

Declaro estar de acordo em submeter-me a este exame (coleta de sangue)

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente

**Anexo II - Parecer nº ETIC 0415/06**

Universidade Federal de Minas Gerais  
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

**Parecer nº. ETIC 0415/06**

**Interessado: Prof. Joel Alves Lamounier**  
**Depto de Pediatria**  
**Faculdade de Medicina-UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 13 de dezembro de 2006, o projeto de pesquisa intitulado **"Obesidade na infância e adolescência: Análise dos fatores preditivos e determinantes de risco para doença cardiovascular no adulto."** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

  
**Prof. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia**  
**Presidente do COEP/UFMG**

## Obesidade na infância e adolescência

### *Childhood and adolescent obesity*

Rafael Machado Mantovani<sup>1</sup>; Maria de Fátima Sabino Viana<sup>1</sup>; Sarah Baccarini Cunha<sup>2</sup>; Letícia Castro Rubim de Moura<sup>3</sup>; Juliana Metzker de Oliveira<sup>3</sup>; Flávia Fonseca de Carvalho<sup>3</sup>; Juni Carvalho Castro<sup>4</sup>; Ana Cristina Simões e Silva<sup>5</sup>

### RESUMO

Atualmente, a obesidade é um dos problemas mais graves de saúde pública, tanto na vida adulta quanto na infância e na adolescência. Devido ao crescimento acentuado de sua prevalência nas últimas décadas, é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma epidemia global. Além disso, crianças obesas frequentemente se tornam adolescentes e adultos obesos. A obesidade está fortemente associada à hipertensão arterial, dislipidemia, intolerância à glicose e marcadores de inflamação crônica, levando a um aumento de fatores de risco cardiovascular, piora da qualidade de vida, e aumento do índice de mortalidade no adulto. O IMC e a circunferência abdominal são as medidas de melhor custo-benefício para a estimativa da gordura corporal. A publicação de novas curvas de referência de IMC para idade e sexo, pela OMS, permitiu uma melhor avaliação e classificação nutricional da população brasileira. O tratamento das crianças e adolescentes obesos visa sobretudo à diminuição das co-morbidades associadas. É imprescindível a participação da família e de uma equipe multiprofissional no processo de reeducação alimentar e de hábitos de vida. A prevenção da obesidade, com a participação do governo e da sociedade, é talvez a medida mais eficaz no controle desse grave problema de saúde pública.

**Palavras-chave:** Obesidade; Sobrepeso; Pediatria; Saúde da Criança; Doenças Cardiovasculares; Resistência à Insulina; Fatores de Risco.

### ABSTRACT

*The obesity is currently one of the most severe problems in public health not only for adults, but also for children and adolescents. The World Health Organization (WHO) considers it a global epidemic, since there has been a huge increase in its prevalence in the past decades. Obese children frequently become obese adolescents and adults. Obesity is strongly associated to arterial hypertension, dislipidemia, glucose intolerance and chronic inflammatory markers, leading to an elevation in risk factors for cardiovascular diseases, worsening the quality of life and increasing adult mortality. BMI and abdominal circumference are the best cost effective tools for adiposity estimative. Since WHO has recently published new BMI curves for age and sex, there has been an improvement in the nutritional evaluation of the Brazilian population. The treatment of obese children and adolescents aims to decrease associated co-morbidities. It is strongly recommended that lifestyle interventions and behavioral modification involve families and a multiprofessional team. Preventive strategies for obesity, including government and community participation, may be the most effective measures to control this serious public health problem.*

**Key words:** Obesity; Overweight; Pediatrics; Child Health (Public Health); Cardiovascular Diseases; Risk Factors; Insulin Resistance.

<sup>1</sup> Especialista em Pediatria com área de atuação em Endocrinologia Pediátrica; Mestrando em Saúde da Criança e do Adolescente, pela Faculdade de Medicina da UFMG; Membro da Divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas – UFMG.

<sup>2</sup> Especialista em Pediatria com área de atuação em Endocrinologia Pediátrica; Mestre em Pediatria pela Faculdade de Medicina da UFMG; Doutoranda Saúde da Criança e do Adolescente, pela Faculdade de Medicina da UFMG; Membro da Divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas – UFMG.

<sup>3</sup> Bolsistas de iniciação científica da Faculdade de Medicina da UFMG.

<sup>4</sup> Especialista em Pediatria com área de atuação em Endocrinologia Pediátrica; Profa. Adjunto-doutor do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG; Membro da Divisão de Endocrinologia Pediátrica do Hospital das Clínicas – UFMG.

<sup>5</sup> Especialista em Pediatria com área de atuação em Nefrologia Pediátrica; Profa. Adjunto-doutor do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG; Membro da Unidade de Nefrologia Pediátrica do Hospital das Clínicas – UFMG.

Faculdade de Medicina – UFMG

Endereço para correspondência:  
Ana Cristina Simões e Silva  
Faculdade de Medicina - Departamento de Pediatria  
Av. Alfredo Balena, 190, 2º andar, sala 267  
B: Santa Efigênia  
Belo Horizonte – MG  
CEP: 30.130-100  
Email: ana@medicina.ufmg.br

## **Anexo IV – Childhood obesity: Evidence for association between plasminogen activator inhibitor-1 levels and visceral adiposity**

### **Authors**

Rafael Machado Mantovani<sup>1</sup>, MD; Danyelle Romana Alves Rios<sup>2</sup>, PhD; Letícia Castro Rubim de Moura<sup>1</sup>; Juliana Metzker de Oliveira<sup>1</sup>; Flávia Fonseca de Carvalho<sup>1</sup>; Sarah Baccarini Cunha<sup>1</sup>, MD; Maria de Fátima Sabino Viana<sup>1</sup>, MD; Joel Alves Lamounier<sup>1</sup>, MD, PhD; Juni Carvalho Castro<sup>1</sup>, MD, PhD; Luci Maria Sant' Ana Dusse<sup>2</sup>, PhD; Ana Cristina Simões e Silva<sup>1</sup>, MD, PhD

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, School of Medicine, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte – MG, Brazil.

<sup>2</sup>Department of Clinical and Toxicological Analysis, School of Pharmacy, UFMG, Belo Horizonte – MG, Brazil.

**Conflict of Interest:** none

**Financial support:** supported by grants from the Research Foundation of the State of Minas Gerais (FAPEMIG). Support was also received from the National Council of Scientific and Technological Development (CNPq).

**Correspondent author: Ana Cristina Simões e Silva**

Faculdade de Medicina, Departamento de Pediatria  
Avenida Alfredo Balena, 190, 2o andar, sala 267. Bairro Santa Efigênia.  
Belo Horizonte – MG. Brazil.  
CEP 30130-100  
Phone: +55 31 3409 9770  
Fax: +55 31 3409 9772  
e-mail: ana@medicina.ufmg.br

**Key-words:** Plasminogen Activator Inhibitor-1, Obesity, Adipose Tissue, Leptin, Insulin Resistance

**Childhood obesity: Evidence for association between plasminogen activator inhibitor-1 levels and visceral adiposity**

**Abstract**

**Objective:** To study selected factors associated to the circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in obese children and adolescents.

**Study design:** This is a cross-sectional study of 86 children and adolescents with mean age of  $10.7 \pm 2.8$  years, 42 male (49%), divided in two groups, according to body mass index (BMI): obese (n=61) and controls (n=25). Subjects were also allocated into three pubertal status groups: pre-pubertal (n=22), early-puberty (n=39) and late-puberty (n=25). Besides anthropometric data, blood samples were collected for measurement of PAI-1, leptin and biochemical markers of metabolic syndrome.

**Results:** Obese group presented significant higher BMI z-score, abdominal circumference (AC)/height, blood pressure, insulin levels, HOMA-IR, triglycerides, leptin and PAI-1 in comparison to control group ( $p < 0.05$  for all comparisons). In the univariate analysis, PAI-1 categories presented significant differences between obese and control groups ( $p = 0.035$ ) and for the variables BMI z-score, AC/height, leptin, glucose, HOMA-IR, pubertal progression and triglycerides ( $p < 0.05$  for all). However, multivariate regression analysis showed that only puberty progression ( $p = 0.005$ ) and AC/height index ( $p = 0.002$ ) remained as independent predictors of PAI-1 levels.

**Conclusion(s):** In childhood and adolescence, PAI-1 levels are associated with fat mass accumulation (mainly visceral fat) and with puberty progression.

**Abbreviations:**

**AC:** abdominal circumference;

**BMI:** body mass index;

**CI:** confidence interval;

**CRP:** C-reactive protein;

**ELISA:** enzyme-linked immunoassay;

**HOMA-IR:** homeostasis model assessment for insulin resistance;

**IL-1 $\beta$ :** interleukin-1 $\beta$ ;

**NCHS:** National Center for Health Statistics;

**OD:** odds ratio;

**PAI-1:** plasminogen activator inhibitor-1;

**SD:** standard deviation;

**TGF- $\beta$ :** transforming growth factor- $\beta$ ;

**TNF- $\alpha$ :** tumor necrosis factor- $\alpha$ .

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)