Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Influência do Sobrepeso e da Obesidade em
Adolescentes na Geração de Lipoproteínas de
Baixa Densidade Eletronegativa (LDL⁻)**

Letícia Bertoldi Sanches

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Saúde Pública para obtenção do
título de Mestre em Saúde Pública.**

Área de concentração: Nutrição

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nágila
Raquel Teixeira Damasceno**

São Paulo

2008

Influência do Sobrepeso e da Obesidade em Adolescentes na Geração de Lipoproteínas de Baixa Densidade Eletronegativa (LDL⁻)

Letícia Bertoldi Sanches

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Saúde Pública da Faculdade de
Saúde Pública da Universidade de
São Paulo para obtenção do título
de Mestre em Saúde Pública.**

Área de concentração: Nutrição

**Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nágila
Raquel Teixeira Damasceno**

São Paulo

2008

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como na sua forma eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que a reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

Dedicatória

Aos meus pais, **Adhemar e Elizete**, que sempre me incentivaram e iluminaram os meus primeiros passos, pelo amor incondicional; ao meu irmão, **Estevão**, pelo carinho e estímulo sempre presentes, minha eterna gratidão, e também pela compreensão demonstrada nos períodos que dediquei a este trabalho, subtraindo preciosos momentos do nosso feliz convívio.

Ao meu namorado, **André**, pelo carinho, incentivo, compreensão e conversas de apoio, durante a realização deste trabalho.

À minha **família**, pelo suporte em todos os momentos.

À **Deus**, minha fonte permanente de forças, uma prece de agradecimento.

Agradecimentos

À **Profa. Dra. Nágila Damasceno**, pela dedicação com que me orientou neste trabalho, mostrando e pontuando a arte da pesquisa, muito obrigada por todos os ensinamentos.

Ao **Prof. Magnus Gidlund** pela colaboração e apoio ao disponibilizar seu laboratório para o desenvolvimento de partes desse estudo.

Aos **Profs. Dr. Mauro Fisberg, Dra. Betzabeth Villar e Dra. Isa de Pádua Cintra** pela colaboração durante a coleta de dados.

Aos amigos **Prof. Dr. Clovis de Araújo Peres, Prof. Dr. Euclides Braga Malheiros e Guilherme Moraes Ferraudo** que me auxiliaram nas inúmeras análises estatísticas.

Às amigas **Ana Paula, Isis, Karin, Márcia e Sara** que sempre foram muito prestativas e me ajudaram na execução dos trabalhos, além de muitos momentos de descontração. Às alunas de iniciação científica **Aline Paz, Patrícia, Cláudia, Bruna, Aline Oliveira, Anelise e Camila**, pela dedicação com que auxiliaram na realização deste trabalho. Agradeço a todas pela amizade e energia positiva que dispuseram. Muito obrigada!

A todos os **meus amigos** que sempre me “colocaram para cima” nas minhas horas de tensão!!! E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste estudo.

Aos **adolescentes voluntários de Piracicaba e do Centro de Atendimento e Apoio ao Adolescente (CAAA – Unifesp)**, sem os quais não conseguiria realizar este trabalho.

**Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
– CNPq e à Fundação de Amparo à Pesquisa – FAPESP, pelo apoio
financeiro.**

*"Embora ninguém possa voltar atrás e
fazer um novo começo, qualquer um pode
começar agora e fazer um novo fim."
(Chico Xavier)*

RESUMO

SANCHES, L.B. Influência do Sobrepeso e da Obesidade em Adolescentes na Geração de Lipoproteínas de Baixa Densidade Eletronegativa (LDL⁻) [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública - USP; 2008.

Introdução: A obesidade é uma doença crônica, com determinantes genéticos, metabólicos e comportamentais, que se caracteriza pelo acúmulo de adiposidade no organismo. Em paralelo, as modificações oxidativas da lipoproteína de baixa densidade (LDL) também estão aumentadas na obesidade, gerando LDL minimamente oxidada, também chamada de LDL eletronegativa (LDL⁻). Nesse contexto, os adolescentes, com sua intensa mudança de hábitos alimentares, comportamentos sociais e alterações anátomo-fisiológicas, compõem um grupo com risco de sobrepeso e obesidade aumentado. **Objetivo:** Avaliar a influência do sobrepeso e da obesidade na geração da lipoproteína de baixa densidade eletronegativa (LDL⁻) em adolescentes. **Metodologia:** Cento e cinquenta adolescentes com idade entre 10 e 15 anos, de ambos os sexos, foram avaliados quanto à antropometria (peso, altura, circunferências de braço e cintura) e o hábito alimentar (Questionário de Frequência Alimentar). Avaliou-se ainda o conteúdo de LDL⁻ e seus auto-anticorpos, o perfil lipídico, marcadores inflamatórios (IL-6 e PCR) e antioxidantes plasmáticos (α -tocoferol e retinol). **Resultados:** O perfil lipídico do grupo Obeso apresentou diferença significativa em relação aos Eutróficos observando maiores concentrações para Colesterol total ($p=0,007$) e LDL-c ($p=0,033$) e menores concentrações para HDL-c ($p=0,001$). O conteúdo de colesterol associado à VLDL e os Triglicerídeos foi semelhante entre grupos ($p=0,126$). Em relação ao conteúdo de LDL⁻ no plasma, o grupo Eutrófico apresentou valores inferiores aos grupos Sobrepeso ($p=0,021$) e Obeso ($p=0,015$). Para as concentrações de auto-anticorpos anti-LDL⁻ não houve diferença significativa entre os grupos. Para a concentração de IL-6 os 3 grupos apresentaram comportamento estatisticamente semelhante ($p=0,678$). De modo contrário,

a concentração plasmática de PCR nos grupos Sobrepeso e Obeso foi superior a observada no grupo Eutrófico ($p < 0,001$). Avaliando os antioxidantes, a concentração de α -tocoferol no grupo Eutrófico apresentou valores superiores aos grupos Sobrepeso ($p = 0,012$) e Obeso ($p < 0,001$), sendo esses semelhantes entre si ($p = 0,798$). A avaliação dos hábitos alimentares, através do QFA, o grupo Obeso apresentou consumo de energia, proteínas, carboidratos, vitaminas A, E e C e fibras superior ao grupo Eutrófico ($p = 0,016$, $p = 0,045$, $p = 0,004$, $p = 0,044$, $p = 0,028$, $p = 0,017$ e $p = 0,024$ respectivamente). Após o ajuste pela energia, somente proteínas ($p = 0,002$) e retinol ($p = 0,049$) apresentaram valores diferentes entre os grupos. **Conclusões:** Os resultados obtidos mostraram que adolescentes obesos e com sobrepeso apresentam perfil metabólico e oxidativo alterado em relação aos adolescentes eutróficos. Portanto, o monitoramento de variáveis bioquímicas em adolescentes, torna-se importante para o diagnóstico precoce de obesidade e doenças associadas.

PALAVRAS-CHAVES: Obesidade, Adolescentes, Dislipidemias, Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa, Oxidação, Nutrição.

Abstract

SANCHES, L.B. Influence of Overweight and Obesity in Adolescents in Generation of Electronegative Low Density Lipoproteins (LDL⁻). [Master Dissertation]. Sao Paulo: School of Public Health - USP; 2008.

Introduction: Some evidence suggests that the prevalence of overweight and obesity has significantly increased in the pediatric population. Obesity represents a chronic and inflammatory disease, where oxidative modification is associated. Many factors modulate the oxidative susceptibility of LDL and produces the LDL⁻ and diet is considered very important in this process. Subnormal antioxidant levels may contribute to the increased risk of atherosclerosis in obese subjects. **Objective:** To evaluate the influence of overweight and obesity on electronegative low density lipoprotein (LDL⁻) in adolescents. **Methodology:** The sample was composed for 150 adolescents, with 10 to 15 years old, both gender. They were evaluated by anthropometric profile and habitual food consumption. After 12 hour of fast, a blood sample was collected, and from the serum, was analyzed the serum lipids, LDL⁻ and your respective antibodies, inflammatory profile (PCR and IL-6) and the α -tocopherol and retinol concentrations. **Results:** The serum lipids had a significant difference between Eutrophic and Obese group for of total-cholesterol ($p=0,007$), HDL-c ($p=0,001$) and LDL-c ($p=0,033$), but for VLDL-c and TG they were similar ($p=0,126$). On the content of LDL⁻ in plasma, in Eutrophic group had lower values than Overweight ($p = 0,021$) and Obeso groups ($p = 0015$). For the concentrations of Auto-antibodies anti-LDL⁻ there was no significant difference between groups. For the concentration of IL-6 the 3 groups had statistically similar behavior ($p = 0678$). In contrary, the plasma concentration of CRP in Overweight and Obese groups was higher than Eutrophic group ($p <0001$). Judging from the antioxidants, the concentration of α -tocopherol in the Eutrophic group showed values greater than Overweight ($p = 0012$) and Obese groups ($p <0001$), which are similar to each other ($p = 0798$). The assessment of habitual food consumption,

through the FFQ, the Obese group presented consumption of energy, protein, carbohydrate, vitamins A, E and C and fiber above the group Eutrophic ($p = 0016$, $p = 0045$, $p = 0004$, $p = 0044$, $p = 0028$, $p = 0024$, $p = 0017$, respectively). After adjusting for energy, only protein ($p = 0002$) and retinol ($p = 0049$) had different values between the groups. **Conclusions:** The present study shows that overweight and obese adolescents showed a metabolic and oxidative profile worse than eutrophic adolescents. Therefore, the monitoring of clinical and biochemical variables in adolescents, it is important for early diagnosis of obesity and related diseases.

KEYWORDS: Obesity, Adolescents, Dyslipidemia, Electronegative Low-density Lipoprotein, Oxidation, Nutrition.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	21
1.1 Aspectos Epidemiológicos da Obesidade	21
1.2 Aspectos Fisiopatológicos e Oxidativos da Obesidade	23
1.3 Parâmetros Antropométricos na Adolescência	30
1.4 Consumo Alimentar	33
2. OBJETIVOS	37
2.1. Geral	37
2.2. Específicos	37
3. METODOLOGIA	39
3.1.Casuística	39
3.1.1 Cálculo amostral.....	40
3.1.2. Análise de riscos e benefícios	40
3.2. Obtenção de sangue.....	41
3.3. Detecção de LDL ⁻ no plasma.....	41
3.4. Detecção de auto-anticorpos anti-LDL ⁻ e anti-LDLox no plasma.....	43
3.5. Determinação do perfil lipídico	44
3.6. Determinação da Concentração de Proteína C-Reativa	45
3.7. Determinação de Antioxidantes (α -tocoferol e retinol).....	46
3.8. Avaliação Antropométrica	49
3.9. Avaliação de Consumo Alimentar	51
3.10. Análise Estatística	52
4. RESULTADOS.....	54
4.1. Caracterização da população.....	54
4.2 Caracterização do Estado Nutricional	57
4.3 Perfil Lipídico.....	59
4.4 Detecção de LDL ⁻ no Plasma.....	62
4.5 Detecção de Auto-Anticorpos Anti-LDL ⁻ e Anti-LDLox.....	63
4.6 Marcador Inflamatório	64
4.7 Antioxidantes Plasmáticos	65
4.8 Consumo Alimentar	66
4.9 Correlações entre as Variáveis de Estudo	68
5. ARTIGOS	74
Artigo 1.....	75
Artigo 2.....	82
6. CONCLUSÃO	104
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
Anexos	130
Anexo 1	131
Anexo 2	132
Anexo 3	133
Anexo 4	134
Anexo 5	136

Lista de Quadros

QUADRO 1: VALORES DE REFERÊNCIA DE LIPÍDEOS PLASMÁTICOS DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES.	45
QUADRO 2: CLASSIFICAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL EM PERCENTIS.	50
QUADRO 3: CLASSIFICAÇÃO POR PERCENTIS DE CIRCUNFERÊNCIA DE CINTURA.	50
QUADRO 4: CLASSIFICAÇÃO POR PERCENTIS DE CIRCUNFERÊNCIA DE BRAÇO.	50

Lista de Figuras

FIGURA 1: EXTRAÇÃO DE ANTIOXIDANTES.....	48
FIGURA 2: ORGANOGRAMA DOS ADOLESCENTES INCLUSOS NO PROJETO.....	54

Lista de Gráficos

GRÁFICO 1: DISTRIBUIÇÃO DOS ADOLESCENTES, SEGUNDO SEXO E ESTADO NUTRICIONAL.	55
GRÁFICO 2: DISTRIBUIÇÃO DA IDADE DOS ADOLESCENTES, SEGUNDO SEXO E ESTADO NUTRICIONAL.....	56
GRÁFICO 3: DISTRIBUIÇÃO DE PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS: ÍNDICE DE MASSA CORPORAL (IMC), CIRCUNFERÊNCIA DA CINTURA (CC) E CIRCUNFERÊNCIA DO BRAÇO (CB), SEGUNDO ESTADO NUTRICIONAL.	58
GRÁFICO 4: DISTRIBUIÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS PLASMÁTICOS DOS ADOLESCENTES, SEGUNDO ESTADO NUTRICIONAL.....	60
GRÁFICO 5: DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES MÉDIOS DO ÍNDICE DE CASTELLI I E II, SEGUNDO O ESTADO NUTRICIONAL.	61
GRÁFICO 6: DETECÇÃO DE LDL ⁻ NO PLASMA, SEGUNDO ESTADO NUTRICIONAL. ...	62
GRÁFICO 7: CONCENTRAÇÃO DE AUTO-ANTICORPOS ANTI-LDL ^{ox} E DE AUTO-ANTICORPOS ANTI-LDL ⁻ NO PLASMA, SEGUNDO O ESTADO NUTRICIONAL.	63
GRÁFICO 8: CONCENTRAÇÃO DE PCR PLASMÁTICA, SEGUNDO O ESTADO NUTRICIONAL.	64

Lista de Tabelas

TABELA 1: VALORES MÉDIOS DE ANTIOXIDANTES PLASMÁTICOS (A-TOCOFEROL E RETINOL), SEGUNDO ESTADO NUTRICIONAL.	65
TABELA 2: CONSUMO DE ENERGIA, MACRONUTRIENTES E MICRONUTRIENTES BRUTOS DOS ADOLESCENTES, SEGUNDO ESTADO NUTRICIONAL.	66
TABELA 3: CORRELAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E PERFIL LIPÍDICO DOS ADOLESCENTES.	68
TABELA 4: CORRELAÇÃO ENTRE LDL ⁻ , VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E PERFIL BIOQUÍMICO DOS ADOLESCENTES.	69
TABELA 5: CORRELAÇÃO ENTRE AUTO-ANTICORPOS ANTI-LDLox (Eq. IgG Hum. µG/ML) VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E BIOQUÍMICAS DOS ADOLESCENTES.	70
TABELA 6: CORRELAÇÃO ENTRE PCR, VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E BIOQUÍMICAS DOS ADOLESCENTES.....	71
TABELA 7: CORRELAÇÃO ENTRE α-TOCOFEROL E RETINOL E VARIÁVEIS ANTROPOMÉTRICAS E BIOQUÍMICAS DOS ADOLESCENTES.....	72

Siglas Utilizadas

ANOVA	Análise de variância
AGL	Ácidos Graxos Livres
BHT	2,6-di-tert-butil-p-hidroxitolueno
CB	Circunferência de braço
CC	Circunferência da cintura
CDC	<i>Center of Disease Control</i>
CT	Colesterol Total
DRI's	<i>Dietary Reference Intakes</i>
EDTA	Ácido etileno-diaminotetraacético
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de alta densidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC 1	Índice de Castelli 1
IC 2	Índice de Castelli 2
IL-6	Interleucina - 6
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL ⁻	Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa
LDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato salina
PCR	Proteína C reativa
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
QFA	Questionário semi-quantitativo de frequência alimentar
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TMB	Tetrametilbenzina
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
VLDL-c	Colesterol associado à lipoproteína de muito baixa densidade
TG	Triacilgliceróis
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral-alfa

Introdução

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos Epidemiológicos da Obesidade

A obesidade é considerada um importante problema de Saúde Pública e, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), representa uma epidemia global, gerando novos casos com o aumento de sua prevalência (OMS, 1998). É considerada uma doença crônica e multifatorial caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo na qual tanto o aporte calórico, quanto o gasto energético, que determinam a quantidade e a qualidade da alimentação, dependem não só de fatores genéticos e fisiológicos, mas também de variáveis culturais, sociais e psicológicas (MUENNING, 2008, FISBERG, 2005).

A obesidade aparece atualmente em países da América Latina, como México, Uruguai, Chile, Peru, Colômbia e Brasil (Federação Latino - Americana de Sociedades de Obesidade - FLASO, 1998), sendo estimado que 200.000 pessoas morram anualmente em decorrência de suas complicações na América Latina (ADES & KERBAUY, 2002).

A obesidade está associada a algumas das mais prevalentes doenças crônicas não-transmissíveis, que aumentam progressivamente com o ganho de peso, como diabetes, hipertensão, ovário micropolicístico, alguns tipos de câncer e problemas respiratórios (WAITZBERG, 2000; ADES & KERBAUY, 2002). De acordo com WEISS et al. (2004) crianças e adolescentes obesos apresentam maior prevalência de resistência à insulina, síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2, quando comparados aos indivíduos eutróficos.

Diversos estudos demonstraram que na etiologia dessas doenças encontram-se fatores vinculados às características genéticas, a nutrição e ao estilo de vida (MARTINS *et al*, 1993, CONSOLIM-COLOMBO & ATALA, 2004).

Embora a prevalência de obesidade no mundo seja crescente, tanto em países em desenvolvimento quanto desenvolvidos, um importante sub-grupo vem despertando interesse especial – os adolescentes. Frutos de uma infância de sobrepeso, se não de obesidade, este grupo tem apresentado incidência de obesidade mais acelerada que a população em geral. Tal perfil tem refletido diretamente no registro, cada vez mais precoce, de doenças crônicas como dislipidemias, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e aterosclerose (CAMPOS *et al*, 2004; HILL *et al*, 1998). Além dos riscos acima, indivíduos obesos, sobretudo crianças e adolescentes, apresentam baixa auto-estima, afetando o desempenho escolar e os relacionamentos, perfis que tendem a persistir na vida adulta (ABRANTES *et al*, 2002; PELLANDA *et al*, 2002).

Gordon – Larsen *et al* (2004) reuniram dados de diversos estudos com adolescentes americanos, com idade entre 13 e 20 anos, e verificaram a prevalência de obesidade de 10,9%, sendo maior em negros não-hispânicos (18,4%) e meninas hispânicas (15,8%).

No Brasil, nota-se o aumento na prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes. Segundo estudos realizados por Abrantes *et al* (2002) baseado em dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (1997), quando se comparou as regiões Nordeste e Sudeste, observou-se prevalência de sobrepeso de 1,7% e 4,2% e de obesidade de 6,6% e 8,4%, respectivamente. Analisando conjuntamente dados das duas regiões, a prevalência no sexo feminino foi de 9,3% de sobrepeso e 3,0% de obesidade, no sexo masculino a prevalência foi de 7,3% e 2,6%, respectivamente.

De acordo com os estudos epidemiológicos, o crescimento acelerado da obesidade nas populações reflete à modernização das sociedades, a qual, entre outros fatores, promove maior oferta de alimentos, aliada à melhoria dos instrumentos de trabalho, com a mecanização e automação,

como um dos principais indicadores responsáveis pela epidemia (ABRANTES *et al*, 2002, PELLANDA *et al*, 2002, HILL & TROWBRIDGE, 1998).

A economia de gasto de energia humana no trabalho e a maior oferta de alimentos mudaram radicalmente o modo de viver. O sedentarismo, concomitante à mudança na alimentação, denominada de “transição nutricional”, caracterizada pela mudança do perfil do estado nutricional, mudou o perfil de morbi-mortalidade nas sociedades, destacando-se o excesso de peso e a obesidade como doenças fundamentais. Por essas razões, a obesidade tem sido denominada como “doença da civilização” ou “síndrome do novo mundo” (BATISTA FILHO & RISSIN, 2003, MARTINS & MARINHO, 2003, CARAMELLI & GIULIANO, 2005). Este comportamento contribui de forma negativa para o aumento da obesidade, uma vez que os adolescentes passam mais tempo em frente ao vídeo-game, computador e televisão, e menos tempo em atividade física voluntária ou involuntária, o que contribui para o aumento da obesidade (HILL & TROWBRIDGE, 1998).

1.2 Aspectos Fisiopatológicos e Oxidativos da Obesidade

Evidências demonstram que a obesidade é fator de risco para diversas doenças crônicas não transmissíveis e processos inflamatórios que se iniciam na infância, como a aterosclerose acompanhada ou não de hipertensão e diabetes (ABRANTES *et al*, 2002; PELLANDA *et al*, 2002). Considerando estes processos patológicos e, tendo por base a resistência à insulina (RI), observamos a associação direta entre a inflamação crônica, a obesidade visceral, a intolerância à glicose, a hipertensão arterial sistêmica e às dislipidemias (a hipertrigliceridemia e a baixa concentração plasmática de HDL), (ESTEVES, 2005; CAMPOS *et al*, 2004).

Pesquisas referentes à fisiologia do tecido adiposo mostram que os adipócitos devem ser considerados mais do que simples células de estoque energético, sendo componentes do controle metabólico e importante órgão endócrino (secreção de hormônios para regulação da ação da insulina, inflamação e homeostase). Este conceito mostra como os adipócitos e os mediadores inflamatórios atuam no processo da obesidade (CAMPOS *et al*, 2004; ESTEVE *et al*, 2005; GREENBERG & OBRIN, 2006).

O tecido adiposo é responsável pela secreção de uma série de “adipocitocinas” que controlam as funções metabólicas nos adipócitos e em diversos outros tecidos corporais. Quando em excesso, induzem alterações metabólicas, como liberação aumentada de ácidos graxos não-esterificados, citocinas (TNF- α e IL-6), adiponectina, resistina e leptina (SANTOS *et al*, 2003; CONSOLIM-COLOMBO & ATALA, 2004; CAMPOS *et al*, 2004; GREENBERG & OBRIN, 2006).

Em pacientes obesos, concentrações elevadas de inibidor de ativador de plasminogênio – PAI I e II, sintetizado no tecido adiposo e outros tecidos, estão associados ao estado pró-trombótico, e também têm forte correlação com outros parâmetros da síndrome metabólica, como aumento na insulina, triglicerídeos e obesidade central. Em paralelo, o angiotensinogênio em concentrações elevadas também está associado com o aumento da hipertensão arterial, além de estar envolvido na regulação da lipogênese (CAMPOS *et al*, 2004; CONSOLIM-COLOMBO & ATALA, 2004).

De acordo com Moulton *et al*. (2003), a infiltração de macrófagos nos adipócitos, o aumento das células T, CD68 e CD3, embora não sendo marcadores inflamatórios específicos, mantêm relação direta com a evolução de afecções crônicas como aterosclerose, diabetes e obesidade. Observando especificamente a obesidade, verifica-se que esta constitui um processo inflamatório de baixa intensidade, sistêmico e crônico que mantém relação direta com o aumento de biomarcadores inflamatórios, tais como

fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR) (LEE & PRATLEY, 2005). Neste contexto, o estado pró-inflamatório presente na obesidade é resultante do desequilíbrio na geração de citocinas e outros marcadores inflamatórios e mantém relação direta com a resistência à insulina, observada cada vez mais precocemente na população.

Indivíduos obesos estão caracteristicamente em um estado pró-inflamatório, que contribui para lesão endotelial, incrementando o risco de doença arterial coronariana, e a elevação de marcadores como a PCR pode indicar o desbalanço entre as citocinas. O aumento da produção de TNF- α no tecido adiposo e da resistina está associado à resistência à insulina. O aparecimento de outras moléculas inflamatórias, tais como a IL-6 antes do desenvolvimento da resistência à insulina e outras complicações da obesidade, mostra que a inflamação no tecido adiposo está na gênese das complicações associadas à obesidade (CAMPOS *et al*, 2004; GREENBERG & OBRIN, 2006). Paralelo ao aumento do TNF- α e da IL-6, há diminuição de adiponectina, que atua como um importante modulador negativo do TNF- α (GREENBERG & OBRIN, 2006).

O aumento do TNF- α no tecido adiposo favorece a resistência à insulina em tecidos periféricos. De acordo com Greenberg e Obrin, (2006), a elevação do TNF- α , assim como da IL-6 presente na obesidade pode ser apontada como causa direta da resistência hepática à insulina, além de ser fator preditor do desenvolvimento de Diabetes Mellitus tipo 2.

Portanto, vários mediadores inflamatórios estão envolvidos no processo de obesidade e nos mecanismos responsáveis pelo desenvolvimento de doenças crônicas (GREENBERG & OBRIN, 2006).

A associação entre obesidade e diversas afecções não transmissíveis é alvo de grande interesse científico, sendo a distribuição da adiposidade e o

aumento no risco cardiovascular o foco central de muitas investigações. O acúmulo de gordura na região intra-abdominal caracteriza-se em obesidade visceral ou central, sendo considerada um indicador de risco cardiovascular e de distúrbios na homeostase glicose-insulina. Os adipócitos que se encontram nessa região têm intensa atividade lipolítica, liberando grandes quantidades de ácidos graxos não esterificados (NEFAs) na circulação portal e sistêmica. O fluxo aumentado de NEFAs no fígado resulta em diminuição da captação hepática de insulina, inibindo sua ligação ao receptor e sua degradação, causando hiperinsulinemia sistêmica. O excesso de NEFAs também promove a redução da degradação da apolipoproteína B100 (ApoB100), causando maior secreção hepática de VLDLs (lipoproteínas de densidade muito baixa) (WAJCHENBERG, 2000). Esse processo apresenta correlação com a fibrinólise e aceleração da progressão da aterosclerose, típicas das alterações metabólicas. A resistência à insulina na gordura visceral é mais evidente do que na gordura subcutânea, sendo que perfil semelhante não é encontrado quando se analisa a obesidade generalizada (MATSUZAWA *et al*, 1999; MARTINS & MARINHO, 2003; CAMPOS *et al*, 2004).

Além dos aspectos inflamatórios associados à obesidade, os produtos de oxidação gerados pelas reações radicalares mantêm forte relação com o ganho de peso. A oxidação é um processo de modificação que pode ser induzido *in vitro*, por metais de transição como ferro e cobre (CHANG *et al*, 1997). Apesar disso, sabe-se que a geração de radicais livres ocorre como parte do processo fisiológico do metabolismo aeróbio, secundária à produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Assim, o metabolismo celular produz radicais livres em condições fisiológicas, mas pode ser estimulado por fontes endógenas ou exógenas, ou em situações patológicas, tais como a obesidade (RAMOS *et al*, 2000).

O processo decorrente da ação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS) sobre os ácidos graxos poliinsaturados presentes nas lipoproteínas favorece a peroxidação lipídica. Sob condições reduzidas de

antioxidantes plasmáticos o processo oxidativo da LDL *in vitro* e, possivelmente, *in vivo*, torna-se mais intenso, ou seja, torna-se não-fisiológico. A LDL assim oxidada apresenta características pró-aterogênicas, tanto em modelos animais, como em humanos (SIQUEIRA et al, 2006). De acordo com STEINBERG et al, (1989) a LDL modificada oxidativamente apresenta as seguintes características:

- Aumento da carga negativa;
- Aumento da densidade;
- Aumentado no conteúdo de lisolecitina, óxidos de colesterol e hidroperóxidos lipídicos e reduzido conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados;
- Fragmentação da ApoB100;
- Atividade quimiotática para monócitos circulantes;
- Atividade inibitória para a migração de macrófagos da parede arterial para a circulação;
- Citotoxicidade aumentada;
- Menor taxa de captação pelo receptor B/E;
- Aumento na captação pelos receptores *scavenger* dos macrófagos.

Avogaro et al., (1988) verificaram a presença de uma partícula com características pró-oxidantes no plasma de indivíduos normais. Esses mesmos autores descreveram que essa partícula, denominada de LDL⁻ (lipoproteína de baixa densidade eletronegativa) apresenta um conteúdo de antioxidantes reduzido e uma elevada concentração de produtos de peroxidação lipídica.

Sabe-se que a hiperglicemia, resultante da resistência à insulina em indivíduos obesos, pode favorecer a produção de ânion superóxido através da ativação da proteína quinase (PK). Fatores endógenos (xantina oxidase e óxido nítrico sintetase) favorecem a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e também podem promover a disfunção endotelial através

da redução na biodisponibilidade de óxido nítrico. Nesse contexto, proteínas, DNA e lipídeos insaturados são elementos passíveis de oxidação (GRANOT & KOHEN, 2004). Portanto, o aumento do estresse oxidativo tem sido associado às injúrias ligadas à obesidade.

Visando comprovar as diferenças na susceptibilidade oxidativa da LDL⁻, quando comparada à LDL nativa, Sevanian *et al*, (1997) analisaram a composição de ácidos graxos e da Apo B destas duas sub-espécies de LDL. Os resultados demonstram menor proporção de ácidos graxos poliinsaturados (os mais suscetíveis à oxidação) e reduzido conteúdo de aminoácidos oxidáveis (histidina e lisina) da LDL nativa em relação à LDL⁻. Verificou-se também redução na concentração de outros aminoácidos neutros na LDL⁻, quando comparada à LDL nativa. Em contraste, Demuth *et al* (1996) demonstraram que não há diferenças significativas do conteúdo de colesterol, óxidos de colesterol, dienos conjugados e TBARS entre a LDL⁻ e a LDL nativa. Esses autores afirmaram que apesar de a LDL⁻ apresentar elevada ação citotóxica, esse evento não se relaciona ao processo de oxidação sofrido pela partícula.

Independente da origem bioquímica da LDL⁻, SIQUEIRA *et al*, (2006) relataram o aumento da proporção da LDL⁻ no plasma de indivíduos com elevado risco cardiovascular, bem como em indivíduos com diabetes mellitus (DM), hipercolesterolemia familiar ou hipertrigliceridemia (SÁNCHEZ-QUESADA *et al.*, 1996; SÁNCHEZ-QUESADA *et al.*, 2003; SÁNCHEZ-QUESADA *et al.*, 2002) e pacientes sob hemodiálise (ZIOZENKOVA *et al.*, 1999).

As modificações oxidativas sofridas pela LDL, mesmo sendo sutis, transformam-na em uma partícula altamente imunogênica. Fosfolipídios contendo ácidos graxos poliinsaturados, após sofrerem modificações oxidativas, ligam-se aos resíduos de lisina na ApoB, gerando neo-epítomos antigênicos, desencadeando, dessa forma, uma resposta auto-imune. Em

modelos animais, títulos plasmáticos elevados de anti-LDLox correlacionaram-se intensamente com a idade e a dieta rica em colesterol (SIQUEIRA, 2006). Em humanos, anticorpos anti-LDLox foram detectados no plasma tanto de indivíduos com elevado risco cardiovascular (SIQUEIRA, 2006), como em populações aparentemente saudáveis (SHOJI et al, 2000). Os estudos relacionando os anticorpos anti-LDLox com a doença cardiovascular, ou seus fatores de risco, têm encontrado resultados controversos (HORKKO et al, 2000). Entretanto, a detecção de anticorpos anti-LDLox reduz a possibilidade da formação dessa partícula durante o processo analítico e, sendo assim, a determinação dos seus autoanticorpos torna-se um indicador importante no monitoramento das reações oxidativas que ocorrem *in vivo* (KOVANEM & PENTIKAINEN, 2003).

São crescentes as evidências da participação da resposta imune adquirida no processo aterosclerótico. Autoanticorpos anti-LDLox foram detectados no plasma de indivíduos com fatores de risco ou doença cardiovascular estabelecida e, imunocomplexos formados a partir desses com a LDLox foram encontrados em placas de ateroma (HORKKO et al, 2000). Porém, o papel do sistema imunológico na iniciação e progressão da doença aterosclerótica ainda é alvo de inúmeras investigações e a importância dos anticorpos como marcadores de risco cardiovascular ainda não foi estabelecida (HORKKO et al, 2000; ROSS, 1999).

Nesse contexto, o monitoramento da lipoproteína de baixa densidade (LDL) evidencia o aumento no número de partículas lipoprotéicas pequenas e densas de LDL em indivíduos obesos, que são reconhecidas como partículas mais aterogênicas, que as lipoproteínas maiores (ST-PIERRE et al, 2001).

Portanto, identificar os fatores que favorecem a suscetibilidade da LDL à modificação oxidativa, assim como o processo inflamatório em

adolescentes torna-se importante para a compreensão dos mecanismos bioquímicos associados à obesidade e a prevenção da aterosclerose.

1.3 Parâmetros Antropométricos na Adolescência

A adolescência é um dos períodos mais vulneráveis para o desenvolvimento da obesidade, pois a transição entre a infância e a vida adulta apresenta intensas mudanças físicas, psicológicas e social. Compreende o período da vida que se estende dos 10 aos 19 anos, segundo critério da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995).

Durante a adolescência, o jovem atinge 80-85% de sua estatura, 53% do peso e 52% de massa esquelética do adulto, mas o que é mais significativo é que o adolescente nessa fase pode dobrar seu peso e aumentar de 15 a 20% em altura (SAMPEI, 2002; STUMP, 1999). O estirão da adolescência ocorre nas meninas entre a idade de 9 a 13 anos, sendo que é nessa mesma época que ocorre a menarca; já nos meninos o estirão ocorre entre os 11 e 14 anos e, geralmente, está associado à maturação sexual.

Quanto à avaliação do estado nutricional na adolescência, a antropometria é especialmente importante porque permite monitorar a evolução das modificações do crescimento. Além disso, durante a fase de crescimento, o indivíduo pode estar sujeito tanto aos déficits nutricionais, quanto aos excessos, e a antropometria é um indicador do estado nutricional e de risco para a saúde (WHO, 1995).

A antropometria é definida como a técnica de expressão quantitativa da forma do corpo. Durante a adolescência, é o método mais acessível e universalmente aplicável, por ser de baixo custo, simples e não invasivo, podendo ser usado por qualquer profissional devidamente treinado. Os índices ou as combinações de medidas mais freqüentemente utilizadas na

adolescência são: *altura para idade, peso para idade e peso para altura*, expressos em percentis ou escores-Z (EISENSTEIN *et al*, 2000; SIGULEM *et al*, 2000).

As relações que levam em consideração peso e altura apresentam grande precisão porque essas medições oferecem baixa margem de erro, desde que as técnicas para a tomada das medidas sejam seguidas adequadamente (CONDE & MONTEIRO, 2006). O Índice de Massa Corporal (IMC) é a relação mais conhecida. O cálculo é feito dividindo-se o peso, expresso em quilogramas, pela altura expressa em metros e elevada ao quadrado: $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (metros)}$. Existem controvérsias na literatura em se utilizar o IMC para medir adiposidade. Para alguns autores, este índice é utilizado somente para classificar indivíduos com sobrepeso e não obesidade, pois não mede quantidade de gordura corporal (TROIANO & FLEGAL, 1998).

Apesar do reduzido número de estudos que evidenciem no âmbito populacional a tendência da situação nutricional dos adolescentes no país, o controle e monitoramento do sobrepeso e obesidade na infância e adolescência contribuem para a diminuição do risco de alterações metabólicas, doenças cardiovasculares e outros problemas de saúde na fase adulta (SANTOS *et al*, 2005).

A medida da circunferência abdominal em adultos é aceita como ferramenta importante para avaliação de risco de doenças, tais como a aterosclerose. Entretanto, a escassez de estudos prospectivos de longo prazo na infância e adolescência, dificulta a simples utilização dessa medida para essa população. Além disso, o fato dessa medida apresentar variação em razão do crescimento físico faz com que os pontos de corte tenham que ser diferentes para cada faixa etária (ALMEIDA *et al*, 2007).

Apesar do reduzido número de estudos sobre antropometria e adolescentes, segundo TAYLOR, (1999) e FERNÁNDEZ, (2004) a avaliação da circunferência da cintura isoladamente é uma ferramenta útil e precisa para adultos e crianças. Portanto, a avaliação da distribuição da adiposidade em crianças e adolescentes torna-se importante no diagnóstico da obesidade e suas conseqüências (FERNÁNDEZ, 2004).

O monitoramento dos depósitos de gordura na região visceral pode ser feito com precisão através da tomografia computadorizada, ressonância magnética nuclear e ultrassom, porém métodos inviáveis para estudos populacionais, que utilizam indicadores antropométricos no diagnóstico da obesidade centralizada. A circunferência da cintura ou a razão entre as circunferências da cintura e quadril (RCQ) não representam parâmetros diretos de avaliação da adiposidade visceral, embora sejam capazes de fornecer estimativa da gordura abdominal que, por sua vez, está correlacionada à quantidade de tecido adiposo visceral. Nesse contexto, os indicadores antropométricos mais utilizados são a relação entre as medidas das circunferências da cintura e do quadril e a medida da circunferência da cintura, além das medidas de peso e altura, que visam à obtenção do índice de massa corporal (IMC) (MATSUZAWA *et al*, 1999; MARTINS & MARINHO, 2003; MAGNONI & CUKIER, 2001).

Independente da distribuição da adiposidade, acredita-se que essa seja um fator de risco tanto para adultos como para adolescentes, associado às alterações como hiperlipidemia, risco cardiovascular, Diabetes Mellitus tipo 2 (TAYLOR, 1999; FERNÁNDEZ, 2004). O estudo da distribuição da adiposidade em crianças e adolescentes pode ser dificultado pelas mudanças nos padrões de circunferências e concentrações lipídicas durante a fase de desenvolvimento (FREEDMAN *et al*, 1999).

1.4 Consumo Alimentar

A obesidade na infância e na adolescência tem como consequência a possibilidade de sua manutenção na vida adulta, levando a uma situação de risco à saúde e ao aumento da morbi-mortalidade (CARVALHO *et al* 2001).

Vários estudos epidemiológicos têm se direcionado à população de adolescentes, devido às mudanças nos seus hábitos alimentares nas últimas décadas, caracterizando-se por dietas nutricionalmente inadequadas, contendo baixa ingestão de produtos lácteos, frutas, hortaliças e proteínas (geralmente *fast food*), carentes em nutrientes como ferro, cálcio, zinco, vitaminas A e C, fibras e altamente energéticas, ricas em gorduras saturadas, colesterol e sal (AMORIM CRUZ 2000; CARVALHO *et al* 2001; KAZAPI *et al* 2001; GARCIA *et al* 2003, CARAMELLI & GIULIANO, 2005). Associado a este fator, observa-se que há um aumento do sedentarismo entre os adolescentes, o que prejudica a manutenção do peso ideal. Contrária a esta preocupação, percebe-se que parte dos adolescentes preocupa-se excessivamente com a estética, realizando dietas desequilibradas, restritas e irregulares (KAZAPI *et al*, 2001).

A adolescência por ser uma etapa tipicamente relacionada às novas descobertas, evidencia a falta de interesse dos adolescentes pela adoção de hábitos alimentares saudáveis; além de demonstrar o desconhecimento da importância desta para a qualidade da sua saúde e o estado nutricional futuro (ANDING *et al.*, 1996). Existem consideráveis diferenças entre o consumo declarado pelos adolescentes e os padrões alimentares recomendados, e, conseqüentemente, ao consumo de energia e de nutrientes (KAZAPI *et al*, 2001). A ingestão de gordura nesta faixa etária é um fator preocupante, porque a maioria dos inquiridos tem demonstrado que os adolescentes possuem o hábito de ingerir uma quantidade muito elevada deste nutriente (JONHSON *et al.*, 1994; GAMBARDELLA, 1996). Portanto, o

monitoramento do consumo alimentar dos adolescentes é importante na avaliação da saúde atual e futura (BLOCK *et al* 1992; LIETZ 2002, CAMPOS *et al*, 2004).

Considerando que a obesidade envolve a presença de reações radicalares, torna-se importante avaliar o consumo de antioxidantes. Os seres humanos dispõem de sistemas antioxidantes não-enzimáticos, que incluem substâncias não-protéicas de baixo peso molecular (vitamina A e E e pró-beta-carotenos e outros compostos bioativos), e por um sistema enzimático, composto pela superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e glutathione reductase. Independente de sua classificação, os antioxidantes são capazes de neutralizar ou reduzir a reatividade dos radicais livres (RAMOS *et al*, 2000).

O desequilíbrio entre os fatores prooxidantes e os antioxidantes, favorecendo os oxidantes, potencializa o dano oxidativo nas células, sendo denominado por estresse oxidativo (SIES *et al*, 2005).

Portanto, o consumo de uma refeição rica em lipídeos oxidados ou oxidáveis, em detrimento da capacidade antioxidante endógena, aumenta a chance do acúmulo de produtos de oxidação no plasma, sobretudo associados à LDL. A hiperglicemia e hiperlipidemia pós-prandial também estão associadas diretamente ao aumento do dano oxidativo (SIES *et al*, 2005). Portanto, além da sobrecarga energética consumida pelos adolescentes, a qualidade das dietas tende a favorecer as modificações oxidativas e os processos inflamatórios associados à obesidade.

Uma dieta rica em antioxidantes pode reduzir o estresse oxidativo, a formação e absorção de peróxidos e seus produtos de decomposição, sendo importante para o sistema de defesa do organismo (NIKI *et al*, 1995). Estudos mostram que antioxidantes como ácido ascórbico, α -tocoferol e β -caroteno inibem a oxidação de lipídeos em solução, membranas e

lipoproteínas como a LDL, podendo ser uma importante ferramenta exógena na modulação da formação de LDL oxidada (SIES & STAHL, 1995).

Portanto, tendo por base os aspectos fisiopatológicos associados ao estresse oxidativo, o consumo alimentar dos adolescentes e o reduzido número de estudos sobre oxidação de lipoproteínas em adolescentes, este estudo avaliou a possível influência do sobrepeso e da obesidade na geração da lipoproteína de baixa densidade eletronegativa (LDL⁻), visando estabelecer correlação com o consumo alimentar, com os parâmetros antropométricos e inflamatórios.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a influência do sobrepeso e da obesidade na geração da lipoproteína de baixa densidade eletronegativa (LDL⁻) em adolescentes, quando comparados aos indivíduos eutróficos.

2.2. Específicos

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

- a. Avaliar o estado nutricional;
- b. Determinar o consumo alimentar.
- c. Detectar a concentração de colesterol e triglicerídeos no plasma;
- d. Determinar a concentração de colesterol associado às lipoproteínas (VLDL, LDL e HDL);
- e. Detectar LDL⁻ no plasma;
- f. Detectar auto-anticorpos anti-LDL⁻ e anti-LDLox no plasma;
- g. Detectar os biomarcador inflamatório (PCR) no plasma;
- h. Detectar as concentrações de antioxidantes (α -tocoferol e retinol) no plasma;

Metodologia

3. METODOLOGIA

3.1.Casuística

O estudo foi do tipo transversal e incluiu indivíduos adolescentes recrutados de escolas públicas localizadas na cidade de Piracicaba, São Paulo e do Centro de Atendimento e Apoio ao Adolescente, vinculado à Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Foram considerados inclusos no estudo adolescentes de 10 a 15 anos, de ambos os sexos. Foram excluídos aqueles classificados como desnutridos, correspondente ao percentil abaixo de 3, segundo CDC (2000).

Os responsáveis pelos adolescentes passaram pelo processo de esclarecimento, após o qual assinaram o termo de consentimento, conforme **Anexo 1**. Todos os procedimentos de obtenção de amostras, análises e utilização dos resultados seguiram as normas do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa com Humanos (Brasil, 1996), e obtiveram a aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP) (Processo nº 1223) (Anexo 2).

Parte da amostra utilizada neste estudo está inserida no projeto intitulado *“Consumo dietético e atividade física como determinantes das mudanças do índice de massa corporal de uma coorte de adolescentes matriculados na rede pública de ensino da cidade de Piracicaba, São Paulo”*, financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 02/9521-9.

3.1.1 Cálculo amostral

O tamanho da amostra foi determinado para um estudo aleatorizado, utilizando 3 fatores: faixa etária (4 níveis), sexo (2 níveis: masculino e feminino) e grupo (3 níveis: eutrófico, sobrepeso e obeso). Para um poder mínimo de 80%, nível de significância $p < 0,05$ e para detectar uma diferença mínima entre os valores médios dos extratos em torno de 3 unidades, foi determinado o tamanho da amostra utilizando o programa *Power Analysis Sample Size* (PASS, 2005).

O tamanho da amostra encontrado foi de 6 indivíduos para cada extrato (combinação de níveis e fatores), dando um total de 144 indivíduos, 48 pacientes por grupo, sendo este o ideal mínimo esperado.

A este valor acrescentou-se 20% para possíveis perdas. Portanto, cada grupo deveria ser formado por 58 adolescentes.

3.1.2. Análise de riscos e benefícios

A pesquisa teve caráter de diagnóstico e não de intervenção. Portanto, o risco considerado foi mínimo. Os benefícios resultantes da realização deste estudo basearam-se na identificação de um novo biomarcador (LDL⁻) de risco cardiovascular em indivíduos pertencentes ao grupo de risco (adolescentes com sobrepeso e obesos). Neste contexto, os benefícios para a população incluída no estudo ainda são experimentais, mas visualizam sua aplicação em rotinas laboratoriais a médio e longo prazo. Todos os resultados foram entregues a cada participante do estudo, sendo que aqueles que apresentaram risco ao indivíduo (ao nível bioquímico, nutricional e físico) foram orientados a procurar especialistas. Todos os resultados obtidos neste estudo foram entregues aos responsáveis pelos adolescentes.

3.2. Obtenção de sangue

Após jejum de 12-15 horas coletou-se a partir de cada adolescente 20,0 mL de sangue. A coleta foi realizada por profissional capacitado (técnico ou auxiliar de enfermagem, contratado exclusivamente para este fim) e em local reservado e equipado de modo a conferir segurança laboratorial ao doador e coletor. Todo material necessário para a coleta de sangue foi utilizado pela primeira vez e teve seu descarte efetuado dentro dos padrões de segurança laboratorial. Todas as amostras foram usadas exclusivamente para os fins descritos neste projeto. O sangue foi coletado em tubos vacutainer contendo ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA (1,0 mg/ml), utilizado como anticoagulante e antioxidante, mantido em gelo e protegido da luz até a obtenção do plasma (1500 g, 10 minutos, 4°C). Ao plasma foram acrescentados os seguintes inibidores de proteases: aprotinina (10,0 µg/mL), benzamidina (10,0 µM) e fluoreto de fenilmetilsulfonila-PMSF (5,0 µM), além do antioxidante 2,6-di-terc-butil-p-hidroxitolueno-BHT (100,0 µM). As amostras foram armazenadas a -30°C até o momento das análises.

3.3. Detecção de LDL⁻ no plasma

A partir de um *pool* de LDL obtido por ultracentrifugação, foi identificada e purificada a sub-fração LDL⁻, utilizando-se a técnica descrita por Hodis et al. (1994), com algumas modificações. Após a obtenção da LDL⁻, esta foi purificada em colunas de afinidade para remover as contaminações com albumina (Econo-Pac®, cat. n° 732-2026, Bio-Rad, Inc., Hercules, CA, USA) e IgG (Econo-Pac®, cat. n° 732-3037, Bio-Rad, Inc., Hercules, CA, USA). Deste modo, uma partícula lipoprotéica altamente pura foi obtida e utilizada como padrão de LDL⁻. Placas de 96 poços foram sensibilizadas com anticorpo monoclonal anti-LDL⁻ (1,0 µg/poço) diluído em

tampão carbonato-bicarbonato e incubadas *overnight* a 37°C. O material não aderido foi descartado, sendo os espaços livres bloqueados com leite desnatado (5%) em PBS (150,0 uL/poço). A placa foi incubada por duas horas a 37°C, sendo, em seguida, lavada em quatro ciclos com PBS-Tween (0,05%). Amostras de plasma foram diluídas (1:8000), em leite desnatado a 1% preparado em PBS e a placa foi incubada por duas horas em temperatura ambiente. Em seguida, a mesma foi lavada, conforme descrito acima. Na etapa seguinte, o mesmo anticorpo monoclonal (3D1036) biotilado foi diluído (1:1000) em leite desnatado (1%) em PBS. A reação foi incubada por duas horas a 37°C e, em seguida, lavada. O complexo estreptoavidina-peroxidase (1:1000) diluído em leite desnatado 1%, foi adicionado, sendo a placa incubada por uma hora. Após essa etapa, a reação foi revelada pela adição de 50 uL/poço do substrato (12,0 mL de tampão citrato-fosfato, pH 4,5 + 250,0 uL de TMB + 10,0 uL de H₂O₂) e incubação por 30 minutos, sob proteção da luz. A reatividade foi lida em 450 nm após a reação ter sido bloqueada com H₂SO₄ 1M (50,0 uL/poço). Os resultados obtidos foram expressos em absorbância x 1000 x diluição, após a subtração do *background*. Como a reatividade cruzada para LDL nativa está na faixa de 1 a 3 %, essa não foi considerada, conforme estabelecido por prévios estudos realizados em nosso laboratório. A realização deste ensaio somente foi possível devido o anticorpo monoclonal anti-LDL⁺ ter sido produzido e patentado por nosso grupo de pesquisa (INPI/SP nº 002637/2002).

Para esta análise foi utilizada uma amostra de 144 pacientes, analisadas em triplicata. As demais não foram analisadas devido ao baixo volume de plasma existente.

3.4. Detecção de auto-anticorpos anti-LDL⁻ e anti-LDLox no plasma

Amostras de LDL⁻, obtidas conforme descrito no item 3.3, foram diluídas em tampão carbonato-bicarbonato (0,1 M, pH 9,4) até a concentração final de 0,5 µg/poço. Após a obtenção do antígeno (LDL⁻), placas de 96 poços (EIA/RIA, Costar, Cambridge, MA, USA) foram sensibilizadas e incubadas *overnight* a 4°C. Em seguida, o sobrenadante foi descartado, sendo os sítios livres bloqueados com leite a 5% diluído em tampão fosfato (PBS), pH 7,4 cujas proteases foram previamente inativadas pelo calor (56°C). As placas foram incubadas à temperatura ambiente por 2 horas e, em seguida, foram lavadas cinco vezes com PBS-Tween (0,05%). Após esta etapa, amostras do plasma foram diluídas (1:400 a 1:1600) em leite 1%-PBS. Adicionou-se 50,0 µl de cada amostra/poço, sendo a placa incubada por 2 horas à temperatura ambiente. Em seguida, as placas foram lavadas, conforme descrito acima. Posteriormente, 50,0 µl/poço do anticorpo anti-IgG humana marcado com peroxidase (Kirkegaard & Perry Laboratories – KPL; Gaithersburg, Maryland, USA) (1:2000) diluído em leite 1%-PBS, foi adicionado às placas e incubado por 1 hora e 30 minutos à temperatura ambiente. Após este período, as placas foram lavadas, sendo adicionada o substrato contendo 12,0 mL de tampão citrato-fosfato, pH 4,5 + 250,0 µL de TMB + 10,0 µL de H₂O₂. As placas foram incubadas por 30 minutos, à temperatura ambiente e sob proteção da luz, sendo a absorbância monitorada a 405 nm. Os resultados foram apresentados em absorbância em relação ao equivalente de IgG humana anti-LDL⁻ ou anti-LDLox ou seja, absorbância específica (leitura da amostra – leitura do *background*) aplicada à equação da curva padrão, sendo o valor obtido multiplicado pelo título de diluição. A curva padrão foi construída com IgG total humana (0,183 a 23,4 µg/mL).

Este mesmo protocolo foi utilizado na determinação do conteúdo de anti-LDLox (LDL modificada por CuSO₄, 10 µM, 18h, 37°C), exceto que as amostras do plasma foram diluídas (1:400, 1:800 e 1:1000).

Para esta análise foi utilizada uma amostra de 144 pacientes, analisadas em triplicata. As demais não foram analisadas devido ao baixo volume existente.

3.5. Determinação do perfil lipídico

A concentração de colesterol plasmático e associado à HDL foi determinada por meio de método enzimático colorimétrico, utilizando-se reagente comercial (Colesterol Liquiform® e Colesterol HDL®, nome do Kit, Labtest Diagnóstica S.A., Minas Gerais, Brasil). A concentração de triacilgliceróis no plasma foi determinada por meio de método enzimático colorimétrico (Triglicérides Liquiform®, Labtest Diagnóstica S.A., Minas Gerais, Brasil).

Para determinação do conteúdo de colesterol na VLDL e LDL foram utilizadas as fórmulas de Friedewald (1972), onde:

$$\text{VLDL (mg/dL)} = \text{TG (mg/dL)} / 5$$

$$\text{LDL (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - (\text{HDL} + \text{VLDL})$$

Para classificação dos adolescentes, segundo o perfil lipídico (**Quadro 1**), foram utilizados os valores de referência propostos pela I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência (Sociedade Brasileira de Cardiologia - SBC, 2005).

Quadro 1: Valores de referência de lipídeos plasmáticos de crianças e adolescentes.

Valores de Referência (mg/dL)		
Colesterol Total	< 150	Desejável
	150 – 169	Limítrofe
	≥ 170	Alto
LDL	< 100	Desejável
	100 – 129	Limítrofe
	≥130	Alto
HDL	≥ 45	Desejável
Triglicerídeos	< 100	Desejável
	100 – 129	Limítrofe
	≥130	Alto

Fonte: Sociedade Brasileira de Cardiologia (2005).

3.6. Determinação da Concentração de Proteína C-Reativa

O conteúdo de proteína C reativa foi determinado por meio do método imuno-enzimático (Diagnostic Systems Laboratories, Inc. Webster, Texas, USA).

Para essa análise, selecionou-se aleatoriamente uma sub-amostra dos três grupos, pareada por sexo e idade. Desse modo foram analisadas 88 amostras em duplicatas, sendo os valores apresentados em concentração (ng/mL).

3.7. Determinação de Antioxidantes (α -tocoferol e retinol)

A concentração plasmática de α -tocoferol e retinol foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando-se detectores UV-Vis, (retinol) (PDA Shimadzu SPD-M 10A VP, Japão) e fluorescência (α -tocoferol) (Merck Hitachi L7480, Japão). A extração dos antioxidantes foi realizada com metanol:hexano (1:3, v/v) sob proteção da luz, conforme protocolo estabelecido por Moriel *et al* (1998). A fase contendo hexano foi evaporada e o resíduo dissolvido em fase móvel para a posterior determinação de antioxidantes. Todas as amostras foram filtradas em membranas Millex 13mm, em polietileno, com poros de 22,0 μ m (Millipore, São Paulo, Brasil) e injetadas manualmente no cromatógrafo (20,0 μ L) (**Figura 1**). A quantificação de antioxidantes nas amostras foi determinada a partir de padrões externos formados por retinol sintético e α -tocoferol (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), usados na construção de curvas de calibração com níveis múltiplos, utilizando-se o programa Class-VC 10, LC-work station. Utilizou-se o sistema cromatográfico LC-10 AT VP (Shimadzu, Japão) com coluna C18 de 5 micras, 100 angstroms, medindo 250 x 4,6 mm (Varian Microsorb – MV [®], Varian, Lake Forest, CA, USA). A fase móvel foi composta por metanol: acetonitrila:clorofórmio (35:35:30, v/v/v), contendo perclorato de lítio 20 mM, com fluxo de 1mL/min e corrida de 20min.

Para preparação das curvas-padrões a concentração real foi aferida de acordo com a Lei de Lambert-Beer, utilizando-se os coeficientes de absortividade molar para cada composto.

No detector por fluorescência (Merk LaChron L-7480) foi empregado o comprimento de excitação de 295nm e emissão de 325nm para a análise de α -tocoferol. Para a análise de retinol foi empregado o detector UV-vis SPD-

M10AVP, Shimadzu® em 325nm, sendo selecionado o comprimento de onda de máxima absorbância do pico.

Para esta análise foi utilizada uma amostra de 144 pacientes, analisadas em triplicata. As demais não foram analisadas devido ao baixo volume existente.

Figura 1: Extração de Antioxidantes

3.8. Avaliação Antropométrica

Para a coleta de dados foi utilizado um formulário estruturado para as medidas antropométricas (**Anexo 3**). A medida de altura foi determinada através do estadiômetro *Alturaexata*[®] (TBW, São Paulo, Brasil), com limite de 2,1 m e precisão de 1,0 mm, onde os indivíduos estavam descalços, em posição ereta, com os pés paralelos, calcanhares, panturrilha, glúteos, ombros e cabeça encostados no estadiômetro, com a cabeça sob o plano horizontal de Frankfurt (LHOMAN et al., 1988). O peso foi determinado com os adolescentes utilizando o mínimo de roupas e descalços, através da balança digital *Control*[®] (Plenna, São Paulo, Brasil) com limite de capacidade de 150,0 Kg e precisão de 100,0 g. A partir das medidas de peso e altura foi determinado o índice de massa corporal ($IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura (m}^2\text{)}$), sendo classificado segundo as Curvas de Crescimento do *Center of Disease Control* - CDC (2000) para gênero e idade (**Anexo 4**). Foram adotados os pontos de corte, por percentil, para classificar os adolescentes em eutrófico, sobrepeso e obeso (**Quadro 2**). Foram obtidas as circunferências da cintura e do braço utilizando-se uma fita inelástica flexível com precisão 1,0 mm (TBW Brasil[®], São Paulo, Brasil). Para classificar os adolescentes quanto à circunferência da cintura e do braço, foram utilizados os parâmetros de Fernández (2004) e Frisancho (1993), respectivamente (**Quadros 3 e 4**). A partir das medidas de circunferência da cintura, foi determinado o risco cardiovascular ($P \geq 90$), segundo Fernández (2004).

Quadro 2: Classificação do estado nutricional por percentis de IMC (kg/m^2).

Percentil	Estado Nutricional
< P3	Baixo peso
P3-P10	Risco de baixo peso
P10-P85	Eutrófico
P85-P97	Sobrepeso
$\geq$ P97	Obeso

Fonte: *Centers for Disease Control*, (2005).

Quadro 3: Classificação por percentis de circunferência de cintura.

Percentil	Classificação
< P90	Normal
$\geq$ P90	Risco para Doenças Cardiovasculares

Fonte: Fernández, (2004).

Quadro 4: Classificação por percentis de circunferência de braço.

Percentil	Classificação
<P5	Circunferência reduzida
P5-P10	Risco de circunferência reduzida
P15-P85	Normal
>P85	Circunferência aumentada

Fonte: Frisancho, (1993).

3.9. Avaliação de Consumo Alimentar

A avaliação de consumo alimentar dos adolescentes incluídos no estudo foi realizada por meio do questionário de frequência alimentar semi-quantitativo (QFA) desenvolvido e validado por Slater (2003), tendo sido calibrado para a população desse projeto (Voci, 2006). Os resultados obtidos foram analisados através do programa Dietsys[®], versão 4.0, desenvolvido pelo Instituto Nacional de Câncer dos EUA (Block, 1994). Para minimizar os erros, foi realizada a dupla digitação dos questionários.

O QFA (**Anexo 5**) apresenta perguntas sobre 94 itens alimentares, com sete opções de frequências de consumo (nunca; menos de uma vez ao mês; 1 a 3 vezes ao mês; 1 vez por semana; 2 a 4 vezes por semana; 1 vez ao dia; 2 ou mais vezes ao dia), sobre o período de 6 meses pregressos. A porção nesse questionário representa o consumo médio em gramas de cada item alimentar. O questionário foi aplicado através de entrevista direta com os adolescentes, com o auxílio de um Registro Fotográfico Alimentar (Zabotto *et al*, 1996).

Os nutrientes (energia (Kcal), macronutrientes (g), retinol (μg), β -caroteno (μg), licopeno (μg), vitamina E (mg), gorduras saturadas (g), ácido oléico (g), ácido linoléico (g), colesterol (mg), fibras (g)) foram submetidos à regressão linear para verificar possível correlação com a energia. Nesse teste, o total de calorias ingeridas foi considerado variável independente e o valor absoluto do nutriente variável dependente. Todos os nutrientes com distribuição paramétrica que apresentaram coeficiente de correlação (r) próximo de um e significância de $p < 0,05$ foram ajustados pelo método residual, proposto por Willet e Stampfer (1998) e Mackerras (1996). Os resultados serão apresentados na forma bruta e ajustada.

3.10. Análise Estatística

Todas as análises bioquímicas e imunológicas foram conduzidas em triplicata, sendo a média $\pm$ desvio padrão dos grupos apresentados sob a forma de gráficos e tabelas. A análise comparativa e possíveis correlações foram avaliadas com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*® (SPSS) versão 15.0.

Para a determinação dos testes utilizados, considerou-se o tipo de distribuição das variáveis. Para as variáveis com distribuição normal, foram utilizados testes paramétricos como ANOVA e correlação de *Pearson* e; para as demais variáveis, testes não-paramétricos como *Kruskal-Wallis* e correlação de *Spearman*. O valor de significância considerado foi de $p < 0,05$.

Resultados

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização da população

Atendendo os critérios de inclusão do presente estudo, foram selecionados 150 adolescentes. Dos 150 adolescentes, 60 (40%) eram do sexo masculino e 90 (60%) do sexo feminino, com média de idade $12,8 \pm 1,3$ anos. De acordo com a classificação do estado nutricional por percentis, estabelecida pelo CDC (2000) para IMC, os adolescentes foram divididos em 3 grupos de estudo: **Eutrófico** - n=75 (50%); **Sobrepeso** - n=33 (22%) e **Obeso** - n=42 (28%) (Figura 2).

Figura 2: Organograma dos adolescentes incluídos no projeto.

O **Gráfico 1** apresenta a distribuição dos adolescentes por sexo, segundo estado nutricional. O grupo Eutrófico foi composto por 27 indivíduos do sexo masculino (36,0%) e 48 do sexo feminino (64,0%); o grupo Sobrepeso por 12 do sexo masculino (36,4%) e 21 do sexo feminino (63,6%) e; o grupo Obeso por 21 do sexo masculino (50,0%) e 21 do sexo feminino (50,0%).

Não foi observada diferença significativa quanto ao número de adolescentes segundo sexo, inclusos nos grupos Eutrófico, Sobrepeso e Obeso ($p= 0,299$).

Gráfico 1: Distribuição dos adolescentes, segundo sexo e estado nutricional.

n=150

* Vs Grupo Eutrófico, ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste *Kruskal-Wallis* com nível de significância de $p<0,05$.

O **Gráfico 2** apresenta os valores médios de idade dos adolescentes, segundo sexo e estado nutricional. Observa-se que não há diferença de idade significativa entre os sexos, segundo estado nutricional ($p=0,301$).

Gráfico 2: Distribuição da idade dos adolescentes, segundo sexo e estado nutricional.

n=150

* Vs Grupo Eutrófico, ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste *Kruskal-Wallis* com nível de significância de $p<0,05$.

4.2 Caracterização do Estado Nutricional

O **Gráfico 3** apresenta os valores médios e desvios padrão do índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC), circunferência de braço (CB), segundo o estado nutricional. A média do IMC observada para os grupos Eutrófico, Sobrepeso e Obeso foi de $19,1 \pm 2,18 \text{ Kg/m}^2$, $24,2 \pm 1,87 \text{ Kg/m}^2$ e $30,8 \pm 4,55 \text{ Kg/m}^2$, respectivamente. Estes foram diferentes entre si ($p < 0,001$). Quando se analisou a média da circunferência da cintura nos grupos descritos acima, verificou-se que os Obesos apresentaram valores ($99,5 \pm 13,91 \text{ cm}$) acima do percentil 90 (P90), indicando risco cardiovascular para essa população (FERNÁNDEZ *et al*, 2004). Ao contrário, os grupos Eutrófico e Sobrepeso, apresentaram-se abaixo do P90 ($68,9 \pm 7,36 \text{ cm}$ e $82,3 \pm 11,11 \text{ cm}$, respectivamente). A avaliação das medidas de circunferência do braço teve comportamento semelhante à medida de circunferência da cintura, apresentando valores aumentados nos adolescentes obesos ($34,7 \pm 10,54 \text{ cm}$) (FRISANCHO, 1993). Já os adolescentes do grupo Eutrófico e Sobrepeso, apresentaram valores médios de $22,8 \pm 2,57 \text{ cm}$ e $27,7 \pm 4,48 \text{ cm}$, respectivamente.

Gráfico 3: Distribuição de parâmetros antropométricos: índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura (CC) e circunferência do braço (CB), segundo estado nutricional.

n=150

* Vs Grupo Eutrófico, ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p < 0,05$.

4.3 Perfil Lipídico

A análise do perfil lipídico indicou que os grupos Eutrófico e Obeso apresentaram valores de concentração de Colesterol total ($p=0,007$), HDL-colesterol ($p=0,001$) e LDL-colesterol ($p=0,033$) diferentes. Entretanto, o conteúdo de colesterol associado à VLDL e os Triglicerídeos totais apresentaram perfis semelhantes para os 3 grupos ($p=0,126$). O grupo Sobrepeso foi semelhante aos grupos Eutróficos e Obesos para todas as variáveis lipídicas (**Gráfico 4**).

Para o perfil lipídico destes adolescentes, os valores médios encontrados para CT, HDL-c, LDL-c, VLDL-c e TG, foram respectivamente: grupo Eutrófico - $130,7 \pm 26,79$ mg/dL, $39,6 \pm 9,64$ mg/dL, $89,5 \pm 26,11$ mg/dL, $14,2 \pm 8,17$ mg/dL e $71,2 \pm 40,85$ mg/dL; grupo Sobrepeso $136,8 \pm 31,14$ mg/dL, $36,2 \pm 6,83$ mg/dL, $96,9 \pm 30,89$ mg/dL, $16,6 \pm 10,26$ mg/dL e $83,2 \pm 51,31$ mg/dL e; grupo Obeso $148,1 \pm 33,29$ mg/dL, $32,6 \pm 11,90$ mg/dL, $103,0 \pm 28,99$ mg/dL, $16,9 \pm 8,65$ mg/dL e $84,3 \pm 43,24$ mg/dL.

Verificamos que a maior parte dos adolescentes apresentam concentrações de CT e TG dentro dos limites aceitáveis, segundo os padrões de referência da SBC (2005). Para a fração LDL-c, os grupos Eutrófico e Sobrepeso apresentam valores desejáveis, já o grupo Obeso apresenta um perfil limítrofe. Para a fração HDL-c observamos que, nenhum dos grupos apresentou concentrações dentro dos valores desejáveis, todos os grupos apresentam valores abaixo dos valores de referência.

Gráfico 4: Distribuição dos parâmetros bioquímicos plasmáticos dos adolescentes, segundo estado nutricional.

n=150

*Vs Grupo Eutrófico; ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p < 0,05$.

A partir dos resultados do perfil lipídico determinou-se os índices de Castelli I e II. (**Gráfico 5**). Para estes dois parâmetros, observamos diferença significativa entre o grupo Eutrófico e os grupos Sobrepeso ($p<0,001$) e Obeso ($p<0,001$). De forma semelhante, o grupo Sobrepeso apresenta valores mais baixos do que o grupo Obeso ($p<0,001$). O Índice de Castelli I (Col-t/HDL-c) variou de modo proporcional ao IMC, indicando que os adolescentes com sobrepeso e obesos apresentam um perfil de risco cardiovascular proporcionalmente superior aos Eutróficos. Estas observações foram reforçadas pelo índice de Castelli II, onde a participação da HDL foi proporcionalmente menor que a da LDL.

Gráfico 5: Distribuição dos valores médios do Índice de Castelli I e II, segundo o estado nutricional.

n= 150

*Vs Grupo Eutrófico; ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p<0,05$.

Índice de Casteli I – CT/HDL-c

Índice de Castelli II – LDL-c/HDL-c

4.4 Detecção de LDL⁻ no Plasma

A **Gráfico 6** apresenta a distribuição do conteúdo de LDL⁻ no plasma nos três grupos estudados. Quando analisamos estes resultados, observamos que o grupo Eutrófico ($4370,7 \pm 1712,43$ DOx1000) apresentou valores inferiores ao conteúdo de LDL⁻ detectado nos grupos Sobrepeso ($p=0,021$) e Obeso ($5311,4 \pm 2161,69$ DO x 1000 e $5202,8 \pm 1892,99$ DO x 1000, respectivamente) ($p=0,015$). Entretanto, os grupos Sobrepeso e Obeso foram semelhantes entre si ($p=0,721$).

Gráfico 6: Detecção de LDL⁻ no plasma, segundo estado nutricional.

n=144

Valores em (DO x 1000).

*Vs Grupo Eutrófico; ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p < 0,05$.

4.5 Detecção de Auto-Anticorpos Anti-LDL⁻ e Anti-LDLox

O **Gráfico 7** apresenta os valores de auto-anticorpos Anti-LDLox e auto-anticorpos Anti-LDL⁻ no plasma nos três grupos estudados. Neste gráfico observamos que o conteúdo de auto-anticorpos anti-LDLox nos três grupos apresentou valores diferentes ($p < 0,05$). O grupo Eutrófico apresentou valores inferiores aos grupos Sobrepeso ($p = 0,012$) e Obeso ($p < 0,001$) e estes também foram diferentes entre si ($p = 0,005$). De modo contrário o conteúdo de auto-anticorpos Anti-LDL⁻ no plasma a comparação entre os três grupos indicou que não houve diferença significativa ($p = 0,485$).

Gráfico 7: Concentração de auto-anticorpos Anti-LDLox e de auto-anticorpos anti-LDL⁻ no plasma, segundo o estado nutricional.

n=144

*Vs Grupo Eutrófico; ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste *Kruskal Wallis* com nível de significância de $p < 0,05$.

4.6 Marcador Inflamatório

O **Gráfico 8** apresenta valores médios de Proteína C Reativa (PCR), segundo estado nutricional. Neste gráfico, observamos que a concentração plasmática de PCR nos grupos Sobrepeso ($5482,4 \pm 5833,5$ ng/mL) e Obeso ($6269,1 \pm 7116,4$ ng/mL) foi maior do que no grupo Eutrófico ($1971,4 \pm 3591,4$ ng/mL) ($p < 0,001$). Observamos também uma diferença significativa entre os grupos Sobrepeso e Obeso ($p < 0,001$).

Gráfico 8: Concentração de PCR plasmática, segundo o estado nutricional.

n=84

Valores na forma *log*.

*Vs Grupo Eutrófico; ** Vs Grupo Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p < 0,05$.

4.7 Antioxidantes Plasmáticos

A **Tabela 1** apresenta os valores médios de antioxidantes plasmáticos (α -tocoferol e retinol), segundo estado nutricional. A concentração de α -tocoferol no grupo Eutrófico apresentou valores superiores aos grupos Sobrepeso ($p=0,001$) e Obeso ($p=0,001$). Entretanto, estes foram semelhantes entre si ($p=0,345$). De modo contrário à concentração de α -tocoferol, a concentração retinol no grupo Eutrófico apresentou valores inferiores ao grupo Obeso ($p<0,001$) e não apresentou diferença para o grupo Sobrepeso ($p=0,205$). O grupo Sobrepeso e Obeso apresentaram diferenças significantes ($p=0,003$).

Tabela 1: Valores médios de antioxidantes plasmáticos (α -tocoferol e retinol), segundo estado nutricional.

	Eutrófico		Sobrepeso		Obeso	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
α -Tocoferol (mol/L)	0,4	0,4	0,2	0,2*	0,2	0,2*
Retinol (μ mol/L)	2,3	0,7	2,7	0,5	3,1	0,9*,**

n=144

* Vs. Eutrófico; ** Vs. Sobrepeso.

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste *Kruskal-Wallis* com nível de significância de $p<0,05$.

4.8 Consumo Alimentar

A **Tabela 2** mostra os valores brutos médios e desvios padrão de energia, macronutrientes, vitaminas e fibras, caracterizando o hábito alimentar dos últimos seis meses dos grupos Eutrófico, Sobrepeso e Obeso.

Tabela 2: Consumo de energia, macronutrientes e micronutrientes brutos dos adolescentes, segundo estado nutricional.

	Eutrófico		Sobrepeso		Obeso	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Energia (Kcal)	2664,0	1432,2	3163,4	1805,2	3296,9	1991,5
Proteínas (g)	84,1	45,8	108,5	65,5	117,2	62,7*
Gorduras (g)	100,9	64,2	105,0	79,2	123,3	84,0
Carboidratos (g)	373,2	184,8	438,9	262,7	477,2	247,6
Vitamina A (Eq. ret)	663,2	481,8	776,4	866,4	842,6	523,0*
Vitamina C (mg)	144,1	103,3	163,5	131,0	185,6	112,7*
AGS (g)	37,4	23,2	41,7	33,2	40,6	30,9
Ácido Oléico (g)	18,7	10,5	18,6	13,1	22,6	15,2
Ácido Linoléico (g)	8,5	6,6	8,3	5,8	10,4	6,8
Colesterol (mg)	251,7	170,8	296,2	181,6	306,1	205,9
Fibras (g)	21,3	11,0	23,8	14,8	26,9	15,6*
Vitamina E (mg)	5,6	3,5	6,0	3,8	6,3	4,7*
Retinol (µg)	538,5	344,4	553,2	306,9	613,5	394,8*

* Vs Eutrófico; ** Vs Sobrepeso ($p < 0,05$).

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste *ANOVA* e *Kruskal Wallis*; *Teste t* e *Mann Whitney* com nível de significância de $p < 0,05$. Os valores foram analisados estatisticamente na sua forma *Log*. AGS – Ácidos graxos saturados.

Quando avaliamos o consumo de nutrientes em sua forma bruta, observamos que o consumo de proteínas (g), vit A (Eq. de retinol), vit C (mg), fibras (g), vit E e retinol no grupo Obeso foi superior ao observado no grupo Eutrófico ($p=0,008$, $p=0,031$, $p=0,03$, $p=0,039$, $p=0,027$, $p=0,017$ e $p=0,019$ respectivamente). O consumo dos demais nutrientes não apresentou diferença significativa entre os grupos.

Considerando que o consumo de energia exerce influência em diversos nutrientes, conforme proposto por Willet & Stampfer (1998),

realizamos o ajuste destes pela energia. Observamos que consumo de proteínas o grupo Eutrófico apresentou consumo de proteínas inferior ao grupo Obeso ($p=0,007$). Para os outros nutrientes os grupos apresentaram comportamento semelhante, não apresentando diferença significativa.

4.9 Correlações entre as Variáveis de Estudo

Visando avaliar o conteúdo de LDL⁻ e seus auto-anticorpos e os anticorpos anti-LDL^{ox} como desfecho, realizamos diversas correlações entre as variáveis de estudo, dentre elas antropométricas, bioquímicas e de consumo, na intenção de avaliar o impacto do conteúdo de LDL⁻ e seus auto-anticorpos e os anticorpos anti-LDL^{ox}.

A **Tabela 3** mostra a correlação entre as variáveis antropométricas (IMC, CC e CB) e perfil lipídico (CT, LDL-c e HDL-c), independente do estado nutricional dos adolescentes. Desta forma, observamos correlações positivas e significativas entre IMC e CT ($r=0,236$ e $p=0,004$), LDL-c ($r=0,215$ e $p=0,008$), IC1 ($r=0,366$ e $p=0,000$), IC2 ($r=0,320$ e $p=0,000$) e correlação negativa com HDL-c ($r=-0,244$ e $p=0,003$). Quando avaliamos os outros parâmetros antropométricos, observamos correlações positivas e significativas entre CC e CT ($r=0,272$ e $p=0,001$), LDL-c ($r=0,166$ e $p=0,044$), IC1 ($r=0,278$ e $p=0,001$), IC2 ($r=0,200$ e $p=0,015$) e entre CB e CT ($r=0,251$ e $p=0,002$) e IC1 ($r=0,214$ e $p=0,009$).

Tabela 3: Correlação entre variáveis antropométricas e perfil lipídico dos adolescentes.

	IMC (kg/m ²)		CC (cm)		CB (cm)	
	r	p	r	p	r	p
CT (mg/dL)	0,236	0,004	0,272	0,001	0,251	0,002
LDL-c (mg/dL)	0,215	0,008	0,166	0,044	0,108	0,190
HDL-c (mg/dL)	-0,244	0,003	-0,138	0,095	-0,063	0,448
CT/HDL-c	0,366	0,000	0,278	0,001	0,214	0,009
LDL-c/HDL-c	0,320	0,000	0,200	0,015	0,126	0,128

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se correlação de *Pearson* e *Spearman* com nível de significância de $p<0,05$.

A **Tabela 4** mostra correlação positiva e significativa entre LDL⁻ (DO) e IMC (r=0,218 e p=0,012). Quando avaliado o perfil lipídico, observamos correlações positivas entre LDL⁻ (DO) e LDL-c (r=0,233 e p=0,005), VLDL-c (r=0,216 e p=0,016), TG (r=0,216 e p=0,016) e IC2 (r=0,247 e p=0,000). Avaliando a correlação entre LDL⁻ (DO) e auto-anticorpos anti-LDLox verificamos correlação positiva (r=0,397 e p=0,000). Quando avaliado a concentração do antioxidante plasmático α -tocoferol, encontramos uma correlação negativa e significativa (r= -0,485 e p=0,000).

Tabela 4: Correlação entre LDL⁻, variáveis antropométricas e perfil bioquímico dos adolescentes.

	LDL ⁻ (DO)	
	r	p
IMC (kg/m ²)	0,218	0,012
LDL-c (mg/dL)	0,233	0,005
VLDL-c (mg/dL)	0,216	0,016
TG (mg/dL)	0,216	0,016
LDL-c/HDL-c	0,247	0,000
Anti-LDLox (Eq. IgG Hum. µg/mL)	0,397	0,000
Tocoferol UV (mol/L)	-0,485	0,000

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se correlação de *Pearson* e *Spearman* com nível de significância de p<0,05.

De forma a avaliar o conteúdo de Auto-anticorpos Anti-LDLox, observamos correlações positivas com as variáveis antropométricas, tais como IMC ($r=0,492$ e $p<0,001$), CC ($r=0,441$ e $p<0,001$) e CB ($r=0,440$ e $p<0,001$), LDL-c ($r=0,205$ e $p=0,013$), auto-anticorpos Anti-LDL⁻ ($r=0,247$ e $p=0,004$) e LDL⁻ (DO) ($r=0,397$ e $p<0,001$) e retinol ($r=0,315$ e $p<0,001$), e observamos correlações negativas com conteúdo de α -tocoferol plasmático ($r=-0,667$ e $p<0,001$) (**Tabela 5**).

Tabela 5: Correlação entre Auto-Anticorpos Anti-LDLox (Eq. IgG Hum. $\mu\text{g/mL}$) variáveis antropométricas e bioquímicas dos adolescentes.

	Anti-LDLox (Eq. IgG em $\mu\text{g/mL}$)	
	r	p
IMC (kg/m^2)	0,492	0,000
CC (cm)	0,441	0,000
CB (cm)	0,440	0,000
LDL-c (mg/dL)	0,205	0,013
Anti-LDL- (Eq. IgG em $\mu\text{g/mL}$)	0,247	0,004
LDL ⁻ (DO)	0,397	0,000
Tocoferol UV (mol/L)	-0,667	0,000
Retinol (mol/L)	0,314	0,000

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se correlação de *Pearson* e *Spearman* com nível de significância de $p<0,05$.

No conteúdo de PCR que avalia o processo inflamatório de nosso estudo, podemos observar correlações positivas entre as variáveis antropométricas (IMC $r=0,401$ e $p<0,001$, CC $r=0,411$ e $p<0,001$, CB $r=0,380$ e $p<0,001$) e com o perfil lipídico (CT $r=0,319$ e $p=0,003$, LDL-c $r=0,245$ e $p<0,026$), e correlação negativa com HDL-c ($r=-0,26$ e $p=0,018$) (Tabela 6).

Tabela 6: Correlação entre PCR, variáveis antropométricas e bioquímicas dos adolescentes.

	PCR(ng/mL)	
	r	p
IMC (kg/m ²)	0,401	0,000
CC (cm)	0,411	0,000
CB (cm)	0,380	0,000
CT (mg/dL)	0,319	0,003
HDL-c (mg/dL)	-0,260	0,018
LDL-c (mg/dL)	0,245	0,026

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se correlação de *Pearson* e *Spearman* com nível de significância de $p<0,05$.

A **Tabela 7** mostra as correlações de α -Tocoferol e Retinol plasmático. Quando avaliada as concentrações de α -Tocoferol plasmático, observamos correlações negativas entre variáveis antropométricas, como IMC ($r=-0,411$ e $p<0,001$), CC ($r=-0,299$ e $p<0,001$) e CB ($r=-0,304$ e $p<0,001$), e variáveis bioquímicas, como LDL-c ($r=-0,416$ e $p<0,001$), IC2 ($r=-0,367$ e $p<0,001$), LDL⁻ ($r=-0,485$ e $p<0,001$) e Anti-LDLox ($r=-0,667$ e $p<0,001$). Quando avaliado o Retinol plasmático, observamos correlações positivas para as variáveis antropométricas, como IMC ($r=0,378$ e $p<0,001$), CC ($r=0,331$ e $p<0,001$) e CB ($r=0,360$ e $p<0,001$), e variáveis bioquímicas, como CT ($r=0,289$ e $p=0,001$), LDL-c ($r=0,355$ e $p<0,001$), Anti-LDLox ($r=0,314$ e $p<0,001$), AntiLDL⁻ ($r=0,213$ e $p=0,014$) e correlação negativa com HDL-c ($r=-0,246$ e $p=0,004$).

Tabela 7: Correlação entre α -tocoferol e retinol e variáveis antropométricas e bioquímicas dos adolescentes.

	α -Tocoferol (mol/L)		Retinol (mol/L)	
	r	p	r	p
IMC (kg/m ²)	-0,411	0,000	0,378	0,000
CC (cm)	-0,299	0,000	0,331	0,000
CB (cm)	-0,304	0,000	0,360	0,000
CT (mg/dL)	-0,096	0,261	0,289	0,001
HDL-c (mg/dL)	0,045	0,599	-0,246	0,004
LDL-c (mg/dL)	-0,419	0,000	0,355	0,000
CT/HDL-c	-0,101	0,236	0,390	0,000
LDL-c/HDL-c	-0,367	0,000	0,412	0,000
LDL ⁻ (DO)	-0,485	0,000	0,137	0,112
Anti-LDLox (Eq. IgG em μ g/mL)	-0,667	0,000	0,314	0,000
AntiLDL ⁻ (Eq. IgG em μ g/mL)	-0,161	0,065	0,213	0,014

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se correlação de *Pearson* e *Spearman* com nível de significância de $p<0,05$.

Artigos

5. ARTIGOS

Considerando as novas normas da Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo PORT/CPG/04/08, será apresentado 2 manuscritos resultantes do projeto de pesquisa, no qual o Artigo 1 foi publicado pelo Jornal de Pediatria, intitulado *Anti-oxLDL autoantibodies and their correlations with lipid profile and nutritional status in adolescents*, e o Artigo 2, a ser submetido aos Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, intitulado *Impacto da Proteína-C reativa no risco cardiovascular de adolescentes*.

Artigo 1

*“Anti-oxLDL autoantibodies and their correlations with lipid profile
and nutritional status in adolescents”*

J Pediatr (Rio J). 2008;84(3):258-263

Anti-oxLDL autoantibodies and their correlation with lipid profile and nutritional status in adolescents

Auto-anticorpos anti-LDLox e sua correlação com o perfil lipídico e o estado nutricional de adolescentes

Leticia B. Sanches¹, Isis T. da Silva², Aline F. S. Paz³, Mauro Fisberg⁴, Isa P. Cintra⁵, Betzabeth S. Villar⁶, Nágila R. T. Damasceno⁶

Resumo

Objetivo: Avaliar se o conteúdo de auto-anticorpos anti-LDL oxidada (anti-LDLox) no plasma de adolescentes correlaciona-se com suas medidas antropométricas e com o perfil lipídico.

Métodos: O estudo incluiu 150 adolescentes com idade entre 10 e 15 anos, recrutados do ambulatório de obesidade da Universidade Federal de São Paulo (SP) e de escolas públicas de Piracicaba (SP). Foram avaliadas medidas antropométricas, como índice de massa corporal, circunferência de cintura e do braço, classificando os adolescentes em eutrófico, sobrepeso e obeso. Para as análises bioquímicas, foi realizado o perfil lipídico através de métodos enzimáticos colorimétricos, e para detecção do conteúdo de auto-anticorpos anti-LDLox, utilizou-se o método de ELISA.

Resultados: Segundo análises das variáveis antropométricas, o grupo obeso apresentou perfil alterado em relação aos grupos eutrófico e sobrepeso ($p < 0,01$), indicando risco cardiovascular. Quando o perfil lipídico foi avaliado, observaram-se diferenças estatisticamente significativas para as concentrações de colesterol total ($p = 0,011$), HDL-colesterol ($p = 0,001$) e LDL-colesterol ($p < 0,042$) nos grupos eutrófico e obeso. Para as análises de auto-anticorpos anti-LDLox plasmática, os grupos sobrepeso ($p = 0,012$) e obeso ($p < 0,001$) apresentaram valores superiores ao grupo eutrófico. Também houve correlações entre os auto-anticorpos anti-LDLox e variáveis antropométricas.

Conclusão: A presença de auto-anticorpos anti-LDLox em adolescentes e as alterações metabólicas no perfil lipídico variaram de modo proporcional com parâmetros antropométricos, o que torna o conteúdo de anti-LDLox um potencial indicador bioquímico de risco para síndrome metabólica.

J Pediatr (Rio J). 2008;84(3):258-263: Auto-anticorpos anti-LDLox, perfil lipídico, antropometria e adolescentes.

Abstract

Objective: To investigate whether levels of autoantibodies to oxidized LDL (anti-oxLDL) in the plasma of adolescents correlates with their anthropometric measurements and lipid profiles.

Methods: The study enrolled 150 adolescents aged between 10 and 15 years, recruited from the obesity clinic at Universidade Federal de São Paulo (SP) and from public schools in Piracicaba, SP, Brazil. Anthropometric measurements such as body mass index and waist and arm circumferences were used to classify the adolescents as having healthy weight, overweight or obesity. Colorimetric enzymatic methods were used for biochemical lipid profile analysis and ELISA was used to determine anti-oxLDL autoantibody levels.

Results: Analysis of anthropometric variables indicated that the obese group's profile was abnormal compared to the healthy weight and overweight groups ($p < 0.01$), indicating cardiovascular risk. Analysis of the lipid profiles demonstrated statistically significant differences in concentrations of total cholesterol ($p = 0.011$), HDL-cholesterol ($p = 0.001$) and LDL-cholesterol ($p < 0.042$) between the healthy weight group and the obese group. Analysis of plasma anti-oxLDL autoantibodies demonstrated that the overweight ($p = 0.012$) and obese groups ($p < 0.001$) had higher values than the healthy weight group. There were also correlations between anti-oxLDL autoantibody levels and anthropometric variables.

Conclusions: In adolescents the presence of anti-oxLDL autoantibodies and metabolic changes to the lipid profile vary in proportion with anthropometric parameters, which makes anti-oxLDL concentration a potential biochemical indicator of risk of metabolic syndrome.

J Pediatr (Rio J). 2008;84(3):258-263: Anti-oxLDL autoantibodies, lipid profile, anthropometry and adolescents.

1. Mestranda em Saúde Pública, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP.
2. Mestranda em Nutrição em Saúde Pública, USP, São Paulo, SP.
3. Acadêmica de Nutrição, USP, São Paulo, SP.
4. Professor adjunto, Departamento de Pediatria, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP. Coordenador de atividades, Centro de Atendimento e Apoio ao Adolescente (CAAA), UNIFESP, São Paulo, SP.
5. Professora adjunta, UNIFESP, São Paulo, SP. Chefe, CAAA-UNIFESP, São Paulo, SP.
6. Doutora. Professora, Faculdade de Saúde Pública (FSP), USP, São Paulo, SP.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Como citar este artigo: Sanches LB, da Silva IT, Paz AF, Fisberg M, Cintra IP, Villar BS, et al. Anti-oxLDL autoantibodies and their correlation with lipid profile and nutritional status in adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84(3):258-263.

Artigo submetido em 24.09.07, aceito em 27.02.08.

doi:10.2223/JPED.1805

Introdução

A obesidade é uma doença crônica, multifatorial, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo, no qual tanto o aporte calórico quanto o gasto energético dependem não só de fatores genéticos e fisiológicos, mas também de variáveis culturais, sociais e psicológicas, que determinam a quantidade e qualidade da alimentação¹. No Brasil, nas últimas décadas (1974-1996), observou-se o aumento na prevalência de sobrepeso/obesidade na população geral (24,8%)², inclusive entre adolescentes, sendo que, entre 2002 e 2003, 18,7% deste grupo populacional apresentou sobrepeso/obesidade³. Portanto, esse subgrupo apresenta um comportamento epidêmico de risco para obesidade e suas complicações⁴, sobretudo porque essas alterações podem persistir na vida adulta, favorecendo o aumento no risco de síndrome metabólica (SM). Dentre as complicações metabólicas mais comuns, destacam-se a intolerância à glicose, diabetes tipo II, hipertensão e dislipidemias⁵, todos intimamente relacionados ao estresse oxidativo⁶.

Neste contexto, as modificações oxidativas em biomoléculas e, particularmente, na lipoproteína de baixa densidade (LDLox), além de serem componentes intrínsecos da gênese da obesidade, têm sido identificadas como um fator pró-aterogênico primário⁷. Segundo Miller et al.⁷, os produtos gerados (malondialdeído, dienos conjugados, hidroperóxidos) apresentam elevado potencial citotóxico, quimiotático e pró-inflamatório⁸. Destaca-se ainda a capacidade imunogênica da LDLox, pois esta partícula e seus auto-anticorpos têm sido identificados tanto nas lesões ateroscleróticas^{8,9} quanto na circulação^{8,10}. Apesar dessas observações, a participação dos auto-anticorpos anti-LDLox no desenvolvimento de fatores de risco associados à SM em adolescentes, sobretudo obesos, ainda é pouco investigada. Custo, tempo e mão de obra especializada necessários ao monitoramento de biomarcadores têm estimulado o desenvolvimento e validação de ferramentas alternativas. Dentre estas, os parâmetros antropométricos direcionados à avaliação do estado nutricional de adolescentes têm sido amplamente usados em estudos epidemiológicos por serem um método prático, rápido e de baixo custo, embora possuam algumas limitações¹¹.

Portanto, o objetivo deste estudo é verificar se o conteúdo de auto-anticorpos anti-LDLox no plasma de adolescentes correlaciona-se com medidas antropométricas e perfil lipídico classicamente utilizados na avaliação do risco de SM em adolescente.

Métodos

O estudo incluiu 150 adolescentes, de ambos os sexos (60% meninas e 40% meninos), com idade média de 12,8±1,29 anos. Desses, 73,3% (n = 110) vieram de Escolas Públicas de Piracicaba, ao passo que 26,7% (n = 40) eram provenientes do ambulatório de obesidade da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP).

O estudo foi do tipo corte transversal e incluiu adolescentes com idade entre 10 e 15 anos, recrutados do ambulatório de obesidade da UNIFESP e de escolas públicas do município de Piracicaba (SP). O tamanho da amostra foi determinado para um estudo aleatorizado, utilizando três fatores: faixa etária (quatro níveis), sexo (dois níveis: masculino e feminino) e grupo (três níveis: eutrófico, sobrepeso e obeso). Para um poder mínimo de 80%, nível de significância alfa (p) de 0,05 e para detectar uma diferença mínima entre os valores médios dos extratos em torno de três unidades, foi determinado tamanho da amostra utilizando o programa *Power Analysis Sample Size*¹². Deste modo, estimou-se que cada grupo deveria conter um mínimo de 48 indivíduos por grupo.

Foram excluídos aqueles com índice de massa corporal (IMC) menor que o percentil 3¹³ para sexo e idade, adolescentes que apresentassem diagnóstico clínico de doenças crônicas (diabetes melito, hipertensão e doenças renais), adolescentes sob uso contínuo de medicamentos e participantes de outros protocolos de pesquisa. Todos os responsáveis pelos participantes passaram pelo processo de esclarecimento, após o qual assinaram o termo de consentimento. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (nº 1223) e atendeu às normas do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa com Humanos¹⁴.

Medidas de altura e peso foram determinadas, respectivamente, através do Estadiômetro Altuxata (TBW Brasil®, Brasil) e da balança digital Control (Plenna®, Brasil). A partir dessas medidas, foi determinado o IMC, classificado segundo as curvas de crescimento do Centers for Disease Control and Prevention (CDC)¹³ para gênero e idade, utilizando os respectivos pontos de corte, por percentil, para classificar os adolescentes em eutrófico, sobrepeso e obeso. Para classificar os adolescentes quanto à circunferência da cintura (CC) e do braço (CB), foram utilizados os parâmetros de Fernández¹⁵ e Frisncho¹⁶, respectivamente. A partir das medidas de CC, foi determinado o risco cardiovascular ($p \geq 90$), segundo Fernández¹⁵.

Após jejum de 12-15 horas, coletou-se 20 mL de sangue para as análises bioquímicas. O perfil lipídico foi determinado por meio de métodos enzimáticos colorimétricos. A concentração de colesterol total (CT), colesterol associado à HDL e triglicerídeos foi determinada por análise direta. A concentração de colesterol associado à LDL e à VLDL baseou-se na fórmula de Friedwald¹⁷.

Os auto-anticorpos anti-LDLox foram determinados através do método ELISA, sendo os resultados apresentados em absorbância relativa ao equivalente de IgG anti-LDLox. A curva padrão foi feita com IgG total humana (23,4 a 0,183 ug/mL).

Os resultados são apresentados sob a forma de média e desvio padrão referentes às análises coletadas em triplicata de cada variável do estudo. Testou-se a normalidade através do teste de Kolmogorov-Smirnov ($p > 0,05$), e as diferenças

CB = circunferência do braço; CC = circunferência da cintura; IMC = índice de massa corporal.

* Versus grupo eutrófico.

† Versus grupo sobrepeso.

Figura 1 - Parâmetros antropométricos e concentração de auto-anticorpos anti-LDLox no plasma (ANOVA, nível de significância $p < 0,05$), segundo o estado nutricional (São Paulo, SP, 2004-2006)

entre os grupos foram avaliadas aplicando os testes de análise de variância (ANOVA) e Kruskal-Wallis. O teste de Spearman foi utilizado para estabelecer correlações entre as variáveis. O nível de significância estabelecido em todas as análises foi de $p < 0,05$. As análises foram realizadas através do programa *Statistical Package for the Social Sciences*® (SPSS, versão 10.0)¹⁸.

Resultados

Baseando-se nos parâmetros antropométricos (IMC), os adolescentes foram divididos em três grupos: eutrófico (GE, $n = 75$), sobrepeso (GS, $n = 33$) e obeso (GO, $n = 42$). De acordo com os resultados obtidos, os grupos não apresentaram diferença estatística em relação a sexo ($p = 0,299$) e idade ($p = 0,301$).

A Figura 1 apresenta os valores médios e desvios padrão do IMC, CC e CB, segundo o estudo nutricional. A média do IMC observada para os grupos GE ($19,1 \pm 2,18$ kg/m²), GS ($24,2 \pm 1,87$ kg/m²) e GO ($30,8 \pm 4,55$ kg/m²) foi estatisticamente diferente ($p < 0,01$). A classificação dos adolescentes segundo IMC foi confirmada pelas análises da CC, nas quais se verificou que o grupo GO apresentou valores ($99,5 \pm 13,91$ cm) acima do percentil 90 (P90), indicando risco cardiovascular para essa população e estatisticamente superior aos grupos GE e GS ($68,9 \pm 7,36$ e $82,3 \pm 11,11$ cm, respectivamente; $p < 0,01$). Perfil semelhante foi observado na avaliação das medidas de CB, nas quais os adolescentes obesos ($34,7 \pm 10,54$ cm) apresentaram valores superiores aos grupos GE e GS ($22,8 \pm 2,57$ e $27,7 \pm 4,48$ cm; $p < 0,01$).

A análise do perfil lipídico indicou que as diferenças nas concentrações de CT ($p = 0,011$), HDL-colesterol ($p = 0,001$) e LDL-colesterol ($p = 0,042$) nos grupos GE e GO foram estatisticamente significativas. Entretanto, o grupo GS apresentou valores semelhantes aos grupos GE e GO. As frações VLDL-colesterol e triglicerídeos foram semelhantes para os três grupos ($p = 0,126$ e $0,126$, respectivamente) (Tabela 1).

A avaliação do conteúdo de auto-anticorpos anti-LDLox plasmática demonstrou que os grupos GS ($p = 0,012$) e GO ($p < 0,001$) apresentaram valores superiores ao grupo GE, sendo estes diferentes entre si ($p = 0,005$) (Figura 2).

Quando as variáveis foram correlacionadas, verificamos que, independente do grupo de estudo, os auto-anticorpos anti-LDLox apresentaram correlação positiva e significativa com o IMC ($r = 0,49$; $p < 0,001$), CC ($r = 0,44$; $p < 0,001$) e CB ($r = 0,44$; $p < 0,001$). A Figura 3 apresenta a correlação entre auto-anticorpos anti-LDLox e CC. Entretanto, quando avaliada a correlação entre auto-anticorpos anti-LDLox com o perfil lipídico, observou-se correlação com LDL-colesterol ($r = 0,205$ e $p < 0,01$). Na Tabela 2, estão representados os valores das correlações entre perfil lipídico e perfil antropométrico.

Discussão

A obesidade é um problema de saúde pública cuja prevalência é crescente na população de adolescentes. Neste sentido, nosso objetivo foi avaliar a possível correlação entre

Tabela 1 - Perfil lipídico de adolescentes, segundo estado nutricional (São Paulo, SP, 2004-2006)**†

	GE (n = 75) Média	GS (n = 33) Média	GO (n = 42) Média
Colesterol total	130,7±26,79	136,8±31,14	148,1±33,29†
HDL-colesterol	39,6±9,64	36,2±6,83	32,6±11,90*
LDL-colesterol	89,5±26,11	96,9±30,89	103,0±28,99*
VLDL-colesterol	14,2±8,17	16,6±10,26	16,9±8,65
Triglicerídeos	71,2±40,85	83,2±51,31	84,3±43,24

GE = grupo eutrófico; GO = grupo obeso; GS = grupo sobrepeso.

* Valores em mg/dL.

† Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p < 0,05$.

* Versus grupo eutrófico.

* Versus grupo eutrófico.

† Versus grupo sobrepeso.

Figura 2 - Parâmetros antropométricos e concentração de auto-anticorpos anti-LDLox no plasma (Kruskal-Wallis, nível de significância $p < 0,05$), segundo o estado nutricional (São Paulo, SP, 2004-2006)

Figura 3 - Correlação entre os auto-anticorpos anti-LDL oxidada e circunferência da cintura (São Paulo, SP, 2004-2006)

parâmetros antropométricos e bioquímicos clássicos com o conteúdo de auto-anticorpos anti-LDLox associados à obesidade.

A concentração de CT e LDL-colesterol, quando comparada entre os três grupos de adolescentes, indicou um aumento proporcional ao IMC, em que GO apresentou a maior concentração de lipídeos séricos. De forma contrária, observou-se associação inversa entre HDL-colesterol e IMC, embora todos os grupos tenham apresentado valores abaixo do recomendado. Desta forma, observamos que os resultados obtidos neste estudo comprovam estudos prévios, nos quais se observou associação positiva entre o CT e o IMC, bem como reduzidos níveis de HDL-colesterol em adolescentes

obesos¹⁹. Apesar de diversos estudos indicarem que a maioria dos adolescentes se encontra dentro dos limites aceitáveis para CT e LDL-colesterol, um elevado percentual apresenta valores na faixa limítrofe (150-169 e 100-129 mg/dL, respectivamente), indicando o potencial risco no qual esta população se encontra²⁰. Em nosso estudo, verificamos que, independente do estado nutricional, aproximadamente 12,0% estão acima do nível ótimo para LDL, sendo que este valor se elevou para 15,2 e 21,4% quando analisamos os indivíduos com sobrepeso e obesidade, respectivamente.

Além da relação entre perfil lipídico e antropometria observada em nosso estudo, Weiss et al.²¹ demonstraram que a obesidade se correlacionou com resistência à insulina ($r = 0,31$ e $p < 0,001$), glicose de jejum ($r = 0,08$ e $p = 0,08$) e glicose pós-prandial ($r = 0,12$ e $p = 0,007$). Resultados semelhantes foram observados no estudo de Sur et al.²², que descreveram aumento do IMC simultâneo à elevação de CT e LDL-colesterol. No presente estudo, encontramos correlações semelhantes, evidenciando a relação direta entre o estado nutricional e fatores de risco associados à doença arterial coronariana. As correlações obtidas, embora significativas, foram fracas ($r < 0,5$), indicando que outros fatores influenciam o ganho de peso, como fatores genéticos, ambientais e o nível de atividade física. Além dessa possibilidade, é provável que devido à maioria dos adolescentes do nosso estudo (88,0%) apresentar perfil lipídico dentro dos limites desejáveis e 50% da amostra ter sobrepeso ou obesidade, a correlação entre estas variáveis tenha sido enfraquecida.

O excesso de peso predispõe ao risco de doenças cardiovasculares, influenciando alterações no metabolismo de lipídeos, glicose e pressão arterial²³. Assim, o reconhecimento dessas alterações é, ao mesmo tempo, indicativo de risco cardiovascular e de morbidade associável à obesidade²⁰. Apesar dos estudos acima, Siemianowicz et al.²⁴ demonstraram que crianças com elevado risco de doenças cardiovasculares devido à história familiar não apresentam os clássicos fatores bioquímicos de risco para aterosclerose. Conseqüentemente, é importante encontrar outros marcadores bioquímicos que possam traduzir seu risco global para doenças cardiovasculares.

Neste contexto, as modificações oxidativas na LDL têm se tornado importante alvo de monitoramento, sobretudo no processo aterosclerótico²⁵. Estas observações sugerem que a detecção destas partículas, assim como de seus auto-anticorpos, possa representar um importante marcador bioquímico associado ao processo oxidativo *in vivo*²⁶. Como o monitoramento da LDLox exige métodos sofisticados (cromatografia líquida de alta eficiência/cromatografia líquida de performance rápida, anticorpos), sua aplicação ainda é relativamente limitada aos estudos experimentais. Ao contrário, a análise dos auto-anticorpos apresenta-se como uma ferramenta de baixo custo, rápida, precisa e específica.

De acordo com Young & McEneny²⁶, os auto-anticorpos anti-LDLox estão relacionados à progressão da aterosclerose. Existem relatos de que crianças eutróficas têm elevada

Tabela 2 - Correlações entre variáveis de perfil lipídico e perfil antropométrico (São Paulo, SP, 2004-2006)

	Colesterol total		LDL-colesterol		HDL-colesterol	
	r	p	r	p	r	p
IMC (kg/m ²)	0,236	0,004*	0,215	0,008*	-0,244	0,003*
CC (cm)	0,272	0,001*	0,166	0,044*	-0,138	0,095
CB (cm)	0,251	0,002*	0,108	0,19	-0,063	0,448

CB = circunferência do braço; CC = circunferência da cintura; IMC = índice de massa corporal.

* Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando Correlação de *Spearman* com nível de significância de $p < 0,05$.

produção de auto-anticorpos anti-LDLox, inclusive apresentando valores maiores que adultos²⁷. Nesse mesmo sentido, Barros et al.¹⁰ encontraram valores inferiores de anticorpos anti-LDLox em crianças e adolescentes hipercolesterolêmicos com ou sem histórico familiar de hipercolesterolemia e doenças arteriais coronárias, quando comparados ao grupo controle. Embora os estudos apresentem perfil diferente do observado em nosso estudo, Liuba et al.²⁸ demonstraram que a inflamação aguda em crianças é acompanhada por mudanças pró-aterogênicas nos lipídeos, juntamente com a elevação de anticorpos anti-LDLox, sugerindo o desenvolvimento da aterosclerose. Mais recentemente, Rodenburg et al.²⁹ encontraram que crianças com histórico familiar de hipercolesterolemia apresentaram maiores níveis de auto-anticorpos (isotipo IgG e IgM), imunocomplexos anti-apoB e anti-malondialdeído (isotipo IgM). Portanto, há um consenso sobre a participação dos anticorpos anti-LDLox, embora o impacto do seu aumento ou redução sobre doenças crônicas, como obesidade e aterosclerose, ainda exija maiores investigações. Apesar disso, e em sintonia com os resultados apresentados em nosso estudo, é provável que o aumento de auto-anticorpos anti-LDLox seja um marcador precoce de risco cardiovascular em adolescentes obesos. No presente estudo, a produção de auto-anticorpos anti-LDLox de acordo com a elevação do IMC cria a perspectiva de interação de parâmetros bioquímicos e antropométricos, ambos direcionados à avaliação do risco cardiovascular de adolescentes. Embora sejam reduzidos os estudos envolvendo a produção de auto-anticorpos anti-LDLox em adolescentes, segundo Binder et al.²⁵, a resposta imune tem importante papel na aterogênese e doenças associadas (obesidade e diabetes), sugerindo a participação destas partículas na progressão dessas doenças.

Portanto, os resultados apresentados neste estudo comprovam a presença de auto-anticorpos anti-LDLox em adolescentes e estabelecem sua relação com parâmetros antropométricos e bioquímicos usados no monitoramento da SM.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, 04/14517-6 para NRTD; 06/51119-4 para ITS; 02/9521-9 para BVS) e ao Conselho

Nacional de Pesquisa (CNPq, 132059/2007-0 para LBS; CNPq, 110960/2005-0 para AFSP).

Referências

1. Waitzberg DL. Nutrição oral, enteral e parental na prática clínica. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2000.
2. Chiara V, Sichieri R, Martins PD. Sensibilidade e especificidade de classificação de sobrepeso em adolescentes, Rio de Janeiro. *Rev Saude Publica*. 2003;37:226-31.
3. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Antropometria e análise do estado nutricional de crianças e adolescentes no Brasil. Pesquisa de orçamentos familiares, 2002-2003. Brasília: IBGE; 2006.
4. Batista Filho M, Rissin A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. *Cad Saude Publica*. 2003; 19:S181-91.
5. Maffei C, Moghetti P, Grezzani A, Clementi M, Gaudino R, Tato L. Insulin resistance and the persistence of obesity from childhood into adulthood. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:71-6.
6. Sies H, Stahl W, Sevanian A. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J Nutr*. 2005;135:969-72.
7. Miller ER 3rd, Erlinger TP, Sacks FM, Svetkey LP, Charleston J, Lin PH, et al. A dietary pattern that lowers oxidative stress increases antibodies to oxidized LDL: results from a randomized controlled feeding study. *Atherosclerosis*. 2005;183:175-82.
8. Matasuo E, Kobayashi K, Tabuchi M, Lopez LR. Oxidative modification of low-density lipoprotein and immune of atherosclerosis. *Prog Lipid Res*. 2006;45:466-86.
9. Damasceno NR, Sevanian A, Apolinário E, Oliveira JM, Fernandes I, Abdalla DS. Detection of electronegative low density lipoprotein (LDL-) in plasma and atherosclerotic lesions by monoclonal antibody-based immunoassays. *Clin Biochem*. 2006;39:28-38.
10. Barros MR, Bertolami MC, Abdalla DS, Ferreira WP. Identification of mildly oxidized low-density lipoprotein (electronegative LDL) and its auto-antibodies IgG in children and adolescents hypercholesterolemic offsprings. *Atherosclerosis*. 2006;184:103-7.
11. Conde WL, Monteiro CA. Body mass index cutoff points for evaluation of nutritional status in Brazilian children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82:266-72.
12. Biostat. NCS statistical software. Power Analysis Sample Size (PASS). Englewood, NJ: Bostat; 2005.

13. National Center for Health Statistics. National Health and Nutrition Examination Survey. 2000 CDC growth charts: United States. <http://www.cdc.gov/growthcharts> 2000. Acesso: 03.05.2006.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996.
15. 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; 145:439-44.
16. Frisancho AR. Anthropometric standards for the assessment of growth and nutritional status. Ann Arbor, MI: University of Michigan Press: 1991.
17. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18:499-502.
18. SPSS Incorporation. Statistical package for the social science for windows student version/SPSS release 13.0 [computer program]. Chicago, IL: SPSS Incorporation; 2000.
19. Giuliano ICB, Coutinho MS, Freitas SF, Pires MM, Zunino JN, Ribeiro RQ. Lípidios séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis, SC: Estudo Floripa saudável 2040. *Arq Bras Cardiol*. 2005;85:85-91.
20. Seki M, Seki MO, Seki MO, Lima AD, Onishi MH, Seki MO, et al. Estudo do perfil lipídico de crianças e jovens até 19 anos de idade. *J Bras Patol Med Lab*. 2001;37:247-51.
21. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, Tamborlane WV, Taksali SE, Yeckel CK, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004;350:2362-74.
22. Sur H, Kolotourou M, Dimitriou M, Kocaoglu B, Keskin Y, Hayran O, et al. Biochemical and behavioral indices related to BMI in schoolchildren in urban Turkey. *Prev Med*. 2005; 41:614-21.
23. Halpern A, Segal A, Ribeiro AB, Garrido A, Mady C, Fernandes F, et al. Diretrizes para Cardiologistas sobre Excesso de Peso e Doença Cardiovascular dos Departamentos de Aterosclerose, Cardiologia Clínica e FUNCOR da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*. 2002;78:S1-13.
24. Siemianowicz K, Gmiński J, Francuz T, Wójcik A, Posielezna B. Activity of antioxidant enzymes in children from families at high risk of premature coronary heart disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 2003;63:151-8.
25. Binder CJ, Shaw PX, Chang MK, Boullier A, Hartvigsen K, Hökkö S, et al. The role of natural antibodies in atherogenesis. *J Lipid Res*. 2005;46:1353-63.
26. Young IS, McEneaney J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem Soc Trans*. 2001;29:358-62.
27. Iuguet L, Volta C, Maggi E, Palladini G, Perugini C, Bellomo G, et al. Circulating antibodies recognizing oxidatively modified low-density lipoprotein in children. *Pediatr Res*. 1999;45:94-9.
28. Liuba P, Persson J, Luoma J, Yla-Herttuala S, Pesonen E. Acute infections in children are accompanied by oxidative modification of LDL and decrease of HDL cholesterol, and are followed by thickening of carotid intima-media. *Eur Heart J*. 2003;24; 515-21.
29. Rodenburg J, Vissers MN, Wiegman A, Miller ER, Ridker PM, Wirtum JL, et al. Oxidized low-density lipoprotein in children with familial hypercholesterolemia and unaffected siblings: effect of pravastatin. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:1803-10.

Correspondência:

Nágila Raquel Teixeira Damasceno
Departamento de Nutrição
Faculdade de Saúde Pública - USP
Av. Dr. Arnaldo, 715
CEP 01246-904 - São Paulo, SP
Tel.: (11) 3061.7701, ramal 220
Fax: (11) 3061.7701, ramal 233
E-mail: nagila@usp.br

Artigo 2

*“Impacto da Proteína-C reativa no risco cardiovascular de
adolescentes.”*

A ser submetido aos Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia

Impacto da Proteína-C reativa no risco cardiovascular de adolescentes

Letícia B. Sanches¹, Isis T. da Silva², Nágila R. T. Damasceno³

1- Mestranda em Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

2- Doutoranda em Nutrição em Saúde Pública, Universidade de São Paulo.

3- Professora Doutora, PhD, Universidade de São Paulo Faculdade de Saúde Pública.

Autor correspondente

Nágila Raquel Teixeira Damasceno

Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo -

Departamento de Nutrição

Av. Dr. Arnaldo, 715 - 01246-904 São Paulo, SP, Brasil

Telephone: 55-11-3061-7701 Ext: 220

Fax: 55-11-3061-7701 Ext: 233

e-mail: nagila@usp.br

Título Resumido: **PCR e risco cardiovascular**

Resumo

Objetivo: Avaliar a Proteína C reativa (PCR) e perfil lipídico em adolescentes com diferentes estados nutricionais. **Métodos:** A amostra foi composta de 84 adolescentes, com 12.64 ± 1.31 anos e de ambos os sexos. Após jejum de 12 horas, amostras de sangue foram coletadas, e a partir do plasma foi analisada a concentração de PCR (ELISA) e o perfil lipídico (métodos enzimáticos colorimétricos), e avaliado o perfil antropométrico (circunferência de cintura e braço). **Resultados:** Adolescentes foram divididos em Eutróficos, Sobrepeso e Obeso. Colesterol total, LDL-c, HDL-c não mostraram diferenças significativas entre os grupos. Para PCR, CC e CB foram observadas diferenças entre os grupos: Eutrófico (1971.4 ± 3591.6 ng/mL; 66.9 ± 7.2 and 22.0 ± 3.0 cm), Sobrepeso (5482.4 ± 5833.5 ng/mL; 82.2 ± 12.5 and 27.5 ± 4.8 cm) e Obeso (6269.1 ± 7116.4 ng/mL; 99.2 ± 13.6 and 33.1 ± 4.3 cm) ($p < 0.01$). Foram encontradas correlações positivas entre PCR e IMC ($r = 0.401$; $p < 0.001$), CC e CB ($r = 0.411$, $p < 0.001$; $r = 0.380$, $p < 0.001$), colesterol plasmático e LDL-c ($r = 0.319$, $p = 0.003$; $r = 0.245$, $p = 0.026$), e correlação negativa com HDL-c ($r = -0.260$; $p = 0.018$). **Conclusão:** Elevadas concentrações de PCR e perfil lipídico, e perfil antropométrico alterado pode proporcionar um aumento do risco cardiovascular em adolescentes quando associados à obesidade.

Descritores: Proteína C reativa, obesidade, adolescentes e estado nutricional

Abstract

Objective: Evaluate the reactive C protein (RCP) and lipid profile in adolescents with different nutritional status. **Methods:** The sample was composed for 84 adolescents, with 12.64 ± 1.31 years old, both gender. After 12 hour of fast, a blood sample was collected, and from the serum, was analyzed the RCP concentrations (ELISA) and Lipid Profile (colorimetric and enzymatic methods), and was measured waist and arm circumferences. **Results:** Adolescents were divided in Eutrophic (n=28), Overweight (n=28) and Obese (n=28). Cholesterol, LDL-c, HDL-c not showed significant differences between groups, but when Reactive C Protein, Waist and Arm circumferences were analyzed we observed differences between groups: Eutrophic (1971.4 ± 3591.6 ng/mL; 66.9 ± 7.2 and 22.0 ± 3.0 cm), Overweight (5482.4 ± 5833.5 ng/mL; 82.2 ± 12.5 and 27.5 ± 4.8 cm) and Obese (6269.1 ± 7116.4 ng/mL; 99.2 ± 13.6 and 33.1 ± 4.3 cm) ($p < 0.01$). We observed positive correlation between reactive C protein and IMC ($r = 0.401$; $p < 0.001$), waist and arm circumference ($r = 0.411$, $p < 0.001$; $r = 0.380$, $p < 0.001$), plasma cholesterol and LDL-c ($r = 0.319$, $p = 0.003$; $r = 0.245$, $p = 0.026$), and negative correlation between reactive C protein and HDL-c ($r = -0.260$; $p = 0.018$). **Conclusion:** High levels of reactive C protein, anthropometric and lipid profile can promote cardiovascular risks in adolescents and increased this subjects when associated with obesity.

Keywords: Reactive C Protein, obesity, adolescents and nutritional status.

Introdução

A obesidade é considerada uma doença crônica, multifatorial, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo no organismo, na qual tanto o aporte calórico, quanto o gasto energético dependem não só de fatores genéticos e fisiológicos, mas também é fortemente influenciada por fatores culturais, condições socioeconômicas e psicológicas (1,2).

Atualmente, a prevalência da obesidade, tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento vem apresentando números cada vez mais elevados (3,4). Kelly et al (5) estimaram para 2030 uma elevação de 25% e 32% nos casos de sobrepeso e obesidade, respectivamente, em todo o mundo.

Segundo, a Organização Panamericana de Saúde - OPAS (6) a obesidade é um problema que atinge todas as faixas etárias. Entretanto, nas últimas décadas o número de adolescentes obesos aumentou cerca de 66% nos Estados Unidos e 240% no Brasil. Dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE obtidos entre 2002-2003 indicaram que o excesso de peso e a obesidade atingiram, respectivamente, 16% e 2% da população de adolescentes do Brasil (7).

Esse perfil tem refletido na ocorrência cada vez mais precoce de eventos cardiovasculares (8,9). De acordo com WEISS et al. (10) crianças e adolescentes obesos apresentam maior prevalência de resistência à insulina, síndrome metabólica e diabetes mellitus tipo 2, quando comparados aos indivíduos eutróficos.

Nesse sentido, são crescentes as evidências de que a inflamação é o ponto central que une a obesidade à ocorrência de doenças cardiovasculares na população adulta (11-13).

O tecido adiposo produz um grande número de adipocitocinas, tais como interleucina-6, adiponectina, leptina e fator de necrose tumoral (TNF- α), que atuam de forma autócrina, parácrina e endócrina (14). O desbalanço entre essas citocinas determina as modificações de várias funções fisiológicas como apetite, balanço energético, sensibilidade à

insulina, pressão arterial, metabolismo lipídico, imunidade e homeostase, fatores que estão intimamente associados às doenças cardiovasculares (15). A associação desses elementos favorece o desenvolvimento de um processo inflamatório de baixa intensidade, caracterizado por um discreto aumento de biomarcadores inflamatórios, como a proteína-C reativa (PCR) e a interleucina-6 (IL-6) (16). Esse aumento pode contribuir ativamente para o início de lesões endoteliais, resultando em um fator de risco importante para a doença arterial coronariana (8,17). Apesar dessas observações, são poucos os estudos sobre processos inflamatórios em adolescentes obesos, sendo esse número ainda mais limitado quando o foco são os adolescentes brasileiros.

Portanto, o objetivo desse estudo foi identificar a associação entre a Proteína C Reativa e marcadores clássicos de risco cardiovascular em adolescentes com diferentes estados nutricionais.

Metodologia

Casuística

O estudo foi do tipo corte transversal e incluiu indivíduos adolescentes recrutados de escolas públicas localizadas no município de Piracicaba, São Paulo e do Centro de Atendimento e Apoio ao Adolescente, vinculado à Universidade Federal de São Paulo (Unifesp, São Paulo). Foram considerados inclusos no estudo adolescentes de 10 a 15 anos, de ambos os gêneros e excluídos aqueles abaixo do percentil 3, segundo *Center Disease Control* – CDC (18).

Os responsáveis pelos adolescentes passaram pelo processo de esclarecimento, após o qual assinaram o termo de consentimento. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP/USP) (Proc. nº 1223) e seguiu as normas do Conselho Nacional de Ética em Pesquisa com Humanos (19).

Métodos

Foram determinadas medidas de altura e peso através do Estadiômetro AlturaExata (TBW Brasil®, São Paulo, Brasil) e da balança digital *Control*® (Plenna, São Paulo, Brasil), respectivamente. A partir dessas medidas foi determinado o índice de massa corporal ($IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura (m}^2\text{)}$), sendo classificado, segundo as Curvas de Crescimento do CDC (2000) para gênero e idade. As circunferências da cintura (CC) e do braço (CB) foram avaliadas utilizando-se uma fita inelástica flexível com precisão 1,0 mm (TBW Brasil®, São Paulo, Brasil).

Cada adolescente foi submetido a uma coleta de sangue (20,0 mL), realizada por profissional capacitado e com materiais descartáveis. A partir do plasma foram determinadas as concentrações de colesterol total, HDL-colesterol e triacilgliceróis através de métodos enzimáticos colorimétricos. Para determinação das frações VLDL-colesterol e LDL-colesterol foram utilizadas as fórmulas de Friedwald (20). A concentração de PCR foi determinada através de ELISA (Diagnostic Systems Laboratories, Inc. Webster, Texas, USA). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Análises Estatísticas

O tamanho amostral foi determinado para um estudo aleatorizado, utilizando 3 fatores: faixa etária (4 níveis), gênero (2 níveis: masculino e feminino) e grupo (3 níveis: eutrófico, sobrepeso e obeso). Estabeleceu-se um poder mínimo de 80%, nível de significância alfa (p) menor que 0,05 para detectar uma diferença mínima entre os valores médios dos extratos em torno de 3 unidades. Empregou-se para o cálculo o programa *Power Analysis Sample Size* (21).

A análise comparativa e possíveis correlações foram avaliadas com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*® (SPSS, vs. 15,0) (22). Os testes utilizados foram ANOVA e correlação de *Pearson*. Para avaliar o efeito das variáveis antropométricas (CC e CB) e bioquímicas (CT, HDL-c, LDL-c e TG) sobre a variação na concentração da PCR foram testados modelos de regressão linear múltipla por meio do programa

Statistical Analysis System (SAS, vs. 9.1.3) (23). O valor de significância considerado foi de $p < 0,05$.

Resultados

Atenderam aos critérios de inclusão do presente estudo 84 adolescentes, com idade média de $12,64 \pm 1,31$ anos, sendo 40 (47,62%) eram do gênero masculino e 44 (52,38%) do gênero feminino. De acordo com a classificação do estado nutricional por percentis de IMC, os adolescentes foram divididos em três grupos: Eutrófico ($n=28$, 33,34%); Sobrepeso ($n=28$, 33,34%) e Obeso ($n=28$, 33,34%). Os grupos Eutrófico, Sobrepeso e Obeso foram estatisticamente semelhantes entre si para idade e gênero ($p=0,13$ e $p=0,83$, respectivamente).

A **Figura 1** apresenta o perfil antropométrico (IMC, CC e CB) dos adolescentes e indica que todas as variáveis foram diferentes entre os grupos (IMC: $p < 0,01$; CC: $p < 0,01$ e CB: $p < 0,01$). Destaca-se que os valores médios de CC e CB observados nos grupos Sobrepeso ($82,2 \pm 12,5$ cm e $27,5 \pm 4,8$ cm) e Obeso ($99,2 \pm 13,6$ cm e $33,1 \pm 4,3$ cm) indicaram risco cardiovascular maior que o grupo Eutrófico ($66,9 \pm 7,2$ cm e $22,0 \pm 3,0$ cm).

A análise do colesterol total, LDL-c, HDL-c, VLDL-c e triacilgliceróis mostrou diferenças significativas entre os grupos Eutrófico e Obeso para colesterol total ($p = 0,048$) e HDL-c ($p = 0,029$). Para as análises de CT/HDL-c e LDL-c/HDL-c foram observadas diferenças significativas entre os grupos Eutrófico e Obeso ($p=0,001$ e $p=0,015$, respectivamente) (**Tabela 1**).

A concentração de PCR apresentou valores diferentes entre os grupos Eutrófico e Sobrepeso ($p < 0,001$) e Obeso ($p < 0,001$), embora os grupos Sobrepeso e Obeso tenham sido semelhantes ($p > 0,05$) (**Figura 2**).

Ao avaliar as correlações entre o conteúdo de PCR e os dados antropométricos, verificou-se que essa variável correlacionou-se positivamente com o IMC ($r=0,427$ e $p < 0,001$), CC ($r=0,418$ e $p < 0,001$) e

CB ($r=0,403$ e $p<0,001$). Observamos também que o CT ($r=0,304$ e $p=0,005$) e a LDL-c ($r=0,226$ e $p=0,040$) apresentaram correlação positiva com a concentração de PCR. Perfil inverso foi encontrado quando avaliamos a relação entre a PCR e a HDL-c ($r=-0,295$ e $p=0,007$) (**Figuras 3 e 4**). Esses resultados foram reforçados pela análise de regressão linear múltipla (*stepwise*) onde verificamos que a variação na CC influencia positivamente a concentração de PCR ($\beta=0,03675$ e $p=0,0003$). Verificamos também associação positiva entre CT ($\beta=0,01395$ e $p=0,0144$) e negativa entre HDL-c ($\beta= - 0,03601$ e $p=0,0494$) e o conteúdo de PCR nos adolescentes.

Discussão

O excesso de peso predispõe ao risco de doenças cardiovasculares, influenciando alterações no metabolismo de lipídeos, glicose e pressão arterial (24). O monitoramento dessas alterações é, ao mesmo tempo, indicativo de risco cardiovascular e de morbidade associável à obesidade (25).

No presente estudo observou-se que todos os parâmetros antropométricos variaram de modo proporcional ao colesterol total e LDL-colesterol. Perfil inverso foi obtido com a HDL-colesterol. De modo semelhante, Carneiro et al (26) descreveram que adolescentes obesos tinham maiores valores de circunferência da cintura, enquanto apresentavam menores valores de HDL-c e maiores valores de triglicérides em comparação com não obesos. Essa relação também foi descrita por Lima et al (27) ao observar que adolescentes obesos têm maiores concentrações de colesterol e LDL-c, que adolescentes eutróficos. Reforçando os estudos acima, Sinaiko et al. (28) observaram que adolescentes com maiores valores de IMC apresentaram maior concentração de lipídeos séricos e diminuição de HDL-c. Lambert et al (29) evidenciaram que o aumento dos quartis de IMC ocorre simultaneamente ao aumento nos quartis de LDL-c, triglicérides e diminuição dos quartis de HDL-c.

Quando comparamos os resultados de PCR entre os grupos definidos no estudo foi possível observar que os adolescentes obesos (6269,05 ng/mL) apresentaram valores superiores aos eutróficos (1971,43 ng/mL). Esses resultados corroboram com o estudo de Visser et al (30) que observaram valores superiores para adolescentes com excesso de peso. Em estudo de Mandato et al (31), foi observada que a concentração PCR em crianças obesas com hepatopatias foi superior ao grupo controle.

Esses resultados indicam que, embora não haja um único limite de referência para PCR normal, os adolescentes incluídos no estudo apresentam um processo inflamatório de baixa intensidade associado à obesidade, independente do ponto de corte que adotarmos. Vários estudos demonstram que a concentração de PCR em adultos está associada positivamente com valores de IMC e circunferência da cintura (32-34).

Tendo por base a forte relação entre parâmetros antropométricos, perfil lipídico, PCR e risco cardiovascular na população adulta, estudos recentes têm investigado a variação da PCR em crianças e adolescentes. Visser et al (31) observaram que crianças com excesso de peso, dos Estados Unidos, quando comparadas às eutróficas, apresentaram maiores concentrações de PCR, além de apresentarem um risco sete vezes maior de terem Síndrome Metabólica na fase adulta caso se tornem obesas. Mais recentemente, Roh et al (35) avaliando adolescentes coreanos obesos confirmaram que adolescentes obesos mantêm as características inflamatórias típica de adultos obesos.

No presente estudo, verificamos que o conteúdo de PCR se correlacionou positivamente com os valores de CC, CB e IMC. Embora perfil semelhante tenha sido descrito por Weinbrenner et al (36), ao estabelecer a relação entre IMC e CC em adultos. Posteriormente, esse perfil foi confirmado em crianças e adolescentes por Weiss et al (10).

Embora a relação entre PCR e vários fatores de risco cardiovascular seja amplamente documentada na população adulta, recentemente Denney-Wilson et al (37) descreveu que a obesidade e valores elevados de CC, em adolescentes, apresentaram associação independente com a PCR. Portanto,

justifica-se a realização de novos estudos, sobretudo nas crianças e adolescentes brasileiros. Nesse sentido Brasil et al (38) e Oliveira et al (39) avaliando a concentração de PCR em adolescentes e crianças brasileiras encontraram associação dessa variável com o IMC e CC.

Além das associações descritas acima e confirmadas no presente estudo, destacam-se as correlações da PCR com o perfil lipídico. Neste estudo observamos a correlação positiva entre colesterol total, LDL-C e PCR, além de correlação negativa com HDL-C. Resultados semelhantes foram descritos por Plourde (40) e Soriano-Guillén et al (13). De modo contrário, Roh et al (35) e Oliveira et al (39) verificara que a PCR só foi associada com os triacilgliceróis, enquanto Guran et al (41) observaram correlação negativa apenas entre PCR e HDL-C.

Embora em crianças os efeitos do processo inflamatório de baixa intensidade seja desconhecido, em adultos clinicamente saudáveis, observa-se que a PCR contribui de forma independente para a ocorrência de eventos coronarianos (32), além de influenciar a incidência futura de diabetes e doenças cardiovasculares (33).

Portanto, os resultados apresentados neste estudo indicam que a adolescentes obesos apresentam um conteúdo de PCR mais elevado que os adolescentes eutróficos, tendo essa variável significativa associação com parâmetros lipídicos e antropométricos classicamente usados para avaliar o risco cardiovascular individual.

Referências

1. Waitzberg DL. Nutrição oral, enteral e parental na prática clínica. São Paulo: Ed. Atheneu, 2000.
2. Muennig P. The body politic: the relationship between stigma and obesity-associated disease. BMC Public Health 2008; 8:128.
3. Batista Filho M, Rissin A. A Nutritional transition in Brazil: geographic and temporal trends. Cad. Saúde Pública. 2003;19(1)S181-S191
4. Haslam DW, James WPT. Obesity. Lancet 2005; 366: 1197–209
5. Kelly T, Yang W, Chen C-S, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. Int J Obes (Lond). 2008 Jul 8. [Epub ahead of print]
6. Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial da Saúde. Doenças crônico-degenerativas e obesidade: Estratégia mundial sobre alimentação saudável, atividade física e saúde. 2002.
7. IBGE. Antropometria e Análise do estado nutricional de Crianças e Adolescentes no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), 2002-2003. 2006.
8. Campos ME, Brandão AA, Freitas EV, Pozzan R, Brandão AP. Novas Perspectivas no Tratamento das Dislipidemias. Rev. Socerj 2004;105-111.
9. Yamamoto-Kimura L, Posadas-Romero C, Posadas-Sánchez, R, Zamora-González J, Cardoso-Saldaña G, Ramírez IM. Prevalence and interrelations of cardiovascular risk factors in urban and rural Mexican adolescents. Journal of Adolescent Health 2006; 38: 591–598.
10. 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;350:2362-74.
11. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and Atherosclerosis. Clinical Cardiology: New Frontiers. 2002; 105:1135-1143.
12. Carpentier YA, Portois L, Malaisse WJ. n-3 Fatty acids and the metabolic syndrome. Am J Clin Nutr. 2006;83(suppl):1499S–504S.

13. Soriano-Guillén L, Hernández-García B, Pita J, Dominguez-Garrido N, Rio-Camacho GD, Rovira A. High sensitivity C-reactive protein is a good marker of cardiovascular risk in obese children and adolescents. *Eur J Endocrinol*. 2008 Jul;159(1):R1-4.
14. Lazar MA. How Obesity Causes Diabetes: Not a Tall Tale. *Science* 2005; 307: 373-375.
15. Wang P, Mariman E, Renes J, Keijer J. The Secretory Function of Adipocytes in the Physiology of White Adipose Tissue. *J. Cell. Physiol*. 2008; 216: 3–13.
16. Lee YH, Pratley RE. The evolving role of inflammation in obesity and metabolic syndrome. *Curr Dia Rep* 2005; 5 (1):70-75.
17. Greenberg AS, Obrin MS. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. *Am J Clin Nut* 2006; 83:461S-465S.
18. National Center for Health Statistics (NCHS): Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. May, 2000. Disponível em: <http://www.cdc.gov/growthcharts>.
19. Brasil. Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996. Dispõe sobre as normas nacionais de ética em pesquisa com humanos. Brasília: Conselho Nacional de Saúde, 1999; 10.
20. Friedewald WT, Levi RI, Fredrickson DS. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparatives ultracentrige. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
21. PASS. Power Analysis and Sample Size (computer software). NCSS, Kaysville, Utah, USA, 2005.
22. SPSS Incorporation. Statistical package for the social science for windows student version/ SPSS (computer program) release 15.0 Chicago: marketing department, 2000.
23. SAS Institute. Statistical software package, release 9.1.3 Service Pack 4. Cary, North Carolina, 2006.
24. Halpern A, Segal A, Ribeiro AB, Garrido A, Mady C, Fernandes F, et al. Diretrizes para Cardiologistas sobre Excesso de Peso e Doença

- Cardiovascular dos Departamentos de Aterosclerose, Cardiologia Clínica e FUNCOR da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2002;78:S1-13.
25. Seki M, Sekil MO, Seki MO, Lima AD, Onishi MH, Seki MO, et al. Estudo do perfil lipídico de crianças e jovens até 19 anos de idade. *J Bras Patol Med Lab*. 2001;37:247-51.
 26. Carneiro JRI, Kushnir MC, Clemente ELS et al. Obesidade na adolescência: fator de risco para complicações clínico-metabólicas. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2000; 44(5): 390-396.
 27. Lima SCVC , Arrais RF, Almeida MG, Souza ZM, Pedrosa LFC. Plasma lipid profile and lipid peroxidation in overweight or obese children and adolescents. *J Pediatr*. 2004;80(1):23-8.
 28. Sinaiko AR, Steinberger J, Moran A, Prineas RJ, Vessby B, Basu S, Tracy R, Jacobs DR. Relation of Body Mass Index and Insulin Resistance to Cardiovascular Risk Factors, Inflammatory Factors, and Oxidative Stress During Adolescence. *Circulation* 2005;111;1985-1991.
 29. Lambert M, Paradis G, O'Loughlin J, Delvin EE, Hanley JA, Levy E. Insulin resistance syndrome in a representative sample of children and adolescents from Quebec, Canada. *International Journal of Obesity* 2004; 28: 833–841.
 30. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB, Low-Grade Systemic Inflammation in Overweight Children. *Pediatrics* 2001; 107 (1).
 31. Mandato C, Lucariello S, Licenziati MR, Franzese A., Spagnuolo MI, Ficarella R, Pacilio M, et al. Metabolic, hormonal, oxidative, and inflammatory factors in pediatric obesity-related liver disease. *J Pediatr* 2005;147:62-6)
 32. Koenig W, Sund M, Fröhlich M, Fischer HG, Löwel H, Döring A, et al. C-Reactive Protein, a Sensitive Marker of Inflammation, Predicts Future Risk of Coronary Heart Disease in Initially Healthy Middle-Aged Men: Results From the MONICA (Monitoring Trends and Determinants

- in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99:237-242.
33. Ford ES. The metabolic syndrome and C-reactive protein, fibrinogen, and leukocyte count: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis* 2003; 168: 351-358.
 34. Snodgrass JJ, Leonard WR, Tarskaia LA, McDade TW, Sorensen MV, Aleksee VP et al. Anthropometric Correlates of C-Reactive Protein among Indigenous Siberians. *J Physiol Anthropol* 200;726(2): 241–246.
 35. Roh EJ, Lim JW, Ko KO, Cheon EJ. A Useful Predictor of Early Atherosclerosis in Obese Children: Serum High-sensitivity C-reactive Protein. *J Korean Med Sci* 2007; 22:192-7.
 36. Weinbrenner T, Schröder H, Escuriol V, Fito M, Elosua R, Vila J, et al. Circulating oxidized LDL is associated with increased waist circumference independent of body mass index in men and women. *Am J Clin Nutr* 2006;83:30–5.
 37. Denney-Wilson E, Hardy LL, Dobbins T, Okely AD, Baur LA. Body mass index, waist circumference, and chronic disease risk factors in Australian adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2008;162(6):566-73.
 38. 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;83(5):477-480.
 39. Oliveira AC, Oliveira AM, Almeida MS, Silva AM, Adan L, Adeia AM. Alanine Aminotransferase and High Sensitivity C-Reactive Protein: Correlates of Cardiovascular Risk Factors in Youth. *J Pediatr* 2008;152:337-42.
 40. Plourde G. Impact of obesity on glucose and lipid profiles in adolescents at different age groups in relation to adulthood. *BMC Fam Pract*. 2002 Oct 14;3:18.

41. Guran O, Akalin F, Ayabakan C, Cereli FY, Haklar G. High-sensitivity C-reactive protein in children at risk for coronary artery disease. *Acta Paediatr.* 2007;96(8):1214-9.

Tabela 1: Perfil lipídico de adolescentes, segundo estado nutricional. São Paulo (2004-2006).

	GE (n=28)	GS (n=28)	GO (n=28)
Colesterol	124,51±24,78	137,73±31,34	144,20±35,03*
HDL-c	39,59±9,45	36,48±7,08	33,00±11,30*
LDL-c	91,65±21,08	99,51±31,37	101,00±30,10
VLDL-c	13,00±6,21	17,00±10,88	16,63±9,39
Triacilgliceróis	65,00±31,07	84,99±54,42	83,15±46,96
CT/HDL-c	3,29±0,90	3,93±1,23	4,83±2,11*
LDL-c/HDL-c	2,44±0,75	2,83±1,08	3,50±1,92*

Valores em (mg/dL)

* Vs Grupo Eutrófico

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste *ANOVA* com nível de significância de $p<0,05$.

Figura 1: Perfil Antropométrico (IMC, CC e CB), segundo o estado nutricional.

*Vs Grupo Eutrófico **Vs Grupo Sobrepeso

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p < 0,001$.

Figura 2: Concentração de PCR plasmática, segundo o estado nutricional.

Log PCR

*Vs Grupo Eutrófico

Diferenças significativas foram estabelecidas utilizando-se o teste ANOVA com nível de significância de $p < 0,001$.

Figura 3: Correlações entre Proteína-C Reativa e parâmetros antropométricos.

Correlações significativas foram estabelecidas através do teste de *Pearson* com nível de significância de $p<0,001$.

Figura 4: Correlações entre Proteína-C Reativa e perfil lipídico.

Correlações significativas foram estabelecidas através do teste de *Pearson* com nível de significância de $p<0,05$.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

Tendo por base os resultados apresentados em nosso estudo, destacamos os seguintes pontos:

1. Adolescentes com sobrepeso e obesidade têm um perfil lipídico de maior risco cardiovascular que os eutróficos, embora os parâmetros avaliados estejam dentro das recomendações da I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência;
2. O conteúdo de LDL⁻ está aumentado nos adolescentes com Sobrepeso e Obesidade em relação aos Eutróficos;
3. A presença de anticorpos anti-LDL⁻ e anti-LDLox, tendo este último correlação com os parâmetros antropométricos, confirma a participação da resposta imune no estresse oxidativo associado à obesidade;
4. Adolescentes com sobrepeso e obesidade apresentam maior concentração de PCR que os adolescentes eutróficos;
5. O α -tocoferol está reduzido nos adolescentes obesos e esse não se correlacionou com o consumo desse antioxidante;
6. Os parâmetros de consumo alimentar brutos ou ajustados pela energia não evidenciaram diferenças significativas entre os adolescentes, exceto para proteínas e retinol;

Em linhas gerais, os resultados obtidos nos permitem concluir que os adolescentes com sobrepeso e, principalmente, os obesos têm maior conteúdo de LDL⁻ circulante, maior concentração de PCR e auto-anticorpos anti-LDLox em detrimento do menor conteúdo de α -tocoferol.

Portanto, os resultados indicam que os adolescentes com sobrepeso e obesidade apresentam risco cardiovascular aumentado por múltiplos mecanismos, quando comparados aos eutróficos.

Referências Bibliográficas

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, M. M., LAMOUNIER, J. A., COLOSISMO, E. A., Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das regiões sudeste e nordeste. J Pediatr, v. 78, n. 4, p. 335-340, 2002.

ADES, L., KERBAUY, R.R. Obesidade: realidade e indignação. Psicologia USP, v.13, n.1, p.197-216, 2002.

AEBERLI I, MOLINARI L, SPINAS G, LEHMANN R, L'ALLEMAND D, ZIMMERMANN MB. Dietary intakes of fat and antioxidant vitamins are predictors of subclinical inflammation in overweight Swiss children. Am J Clin Nutr 2006;84:748 –55.

AEBERLI, I., BIEBINGER, R., LEHMANN, R., L'ALLEMAND, D, SPINAS, G.A., ZIMMERMANN, M.B. Serum retinol-binding protein 4 concentrations and its ratio to retinol are associated with obesity and metabolic syndrome components in children. J Clin Endocrin Metab. 2007, *in press*.

AMORIM CRUZ, J.A. Dietary habits and nutritional status in adolescents over Europe – Southern Europe. Europ J Clin Nut, n.54(Suppl.1), p.S29-S35, 2000.

ANDING, J.D., KUBENA, K.S., McINTOSH, W.A., O'BRIEN, B. Blood lipids, cardiovascular fitness, obesity, and blood pressure: the presence of potential coronary health disease risk factors in adolescents. Journal of American Dietetic Association, Chicago, v.96, n.3, p.238-242, 1996.

ANJOS, L. A. Índices antropométricos e estado nutricional de escolares de baixa renda de um município do Estado do Rio de Janeiro (Brasil): um estudo piloto. Rev. Saúde Pública v.23 n.3 São Paulo jun. 1989.

ASSIS, M. A. A.; NAHAS, M. V. Aspectos motivacionais em programas de mudança de comportamento alimentar. *Revista de Nutrição*. v. 12, n.1, p.33-41, jan/abr, 1999.

ATABEK M. E., KESKIN M, YAZICI C, KENDIRCI M, HATIPOGLU N, KOKLU E, KURTOGLU S. Protein oxidation in obesity and insulin resistance. *Eur J Pediatr* (2006) 165:753–756

Authors Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285(19):2486-97.

AVOGARO, A., KREUTZENBERG, S. V. de. Mechanism of endothelial dysfunction in obesity. *Clinica Chimica Acta*, n. 360, p. 9-26, 2005.

AVOGARO, P.; BITTOLO-BON, G.; CAZZOLATO, G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. *Atherosclerosis*, v. 8, p. 79-87, 1988.

BARROS M R A C, BERTOLAMI M C, ABDALLA D S P, FERREIRA W P. Identification of mildly oxidized low-density lipoprotein (electronegative LDL) and its auto-antibodies IgG in children and adolescents hypercholesterolemic offsprings. *Atherosclerosis*. 2006; 184: 103-107.

BATES, C. J., MISHRA, G.D., PRENTICE, A. Gama-tocopherol as a possible marker for nutrition-related risk: results from four National Diet and Nutrition Surveys in Britain. *British Journal of Nutrition*, 2004. v. 92, p. 137-150.

BATISTA FILHO, M., RISSIN, A. A Nutritional transition in Brazil: geographic and temporal trends. *Cad. Saúde Pública*. 2003;19(1)S181-S191

BAYÉS B, PASTOR MC, BONAL J, FORASTER A, ROMERO R. Oxidative stress, inflammation and cardiovascular mortality in haemodialysis-role of seniority and intravenous ferrotherapy: analysis at 4 years of follow-up. *Nephrol Dial Transplant*. 2006 Apr;21(4):984-90.

BINDER CJ, SHAW PX, CHANG MK, BOULLIER A, HARTVIGSEN K, HÖRKKÖ S, et al. The role of natural antibodies in atherogenesis. *J Lipid Res*. 2005;46:1353-63.

BISSOLI, M. C.; LANZILLOTTI, H. S. Educação nutricional como forma de intervenção: Avaliação de uma proposta para pré-escolares. *Revista de Nutrição*. v.10, n.2, p. 107-113, jul/dez, 1997.

BLOCK G, COYLE LM, HARTMEN AM, SCOPPA SM. Revision of dietary analysis software for the Health Habits and History Questionnaire. *American Journal of Epidemiology*. 139:1190-6, 1994.

BLOCK, G. The data support a role for antioxidants in reducing cancer risk. *Nutrition Reviews*, New York, v.50, n.7, p.207-213, 1992.

BOOG, M. C. F. Educação nutricional: passado, presente, futuro. *Revista Nutrição PUCCAMP*. Campinas, 10 (1): 5-19, jan./jun., 1997.

BRASIL. Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996. Dispõe sobre as normas nacionais de ética em pesquisa com humanos. Brasília: Conselho Nacional de Saúde, 1999. 10 p.

BRAY G.A., LOVEJOY J.C., SMITH S.R., DELANY J.P., LEFEVRE M., HWANG D., RYAN D.H., YORK D.A. The Influence of Different Fats and Fatty Acids on Obesity, Insulin Resistance and Inflammation. *J. Nutr*. 132: 2488–2491, 2002.

CAMPOS M.E., BRANDÃO A.A., FREITAS E.V., POZZAN R., BRANDÃO A.P.. Novas Perspectivas no Tratamento das Dislipidemias. Revista da SOCERJ. 2004;105-111.

CARAMELLI, B., GIULIANO, I. Adolescentes do mundo todo: mexam-se!!! J Pediatr v.81, n.6, p. 427-428, 2005.

CARVALHO, C.M.R.G., NOGUEIRA, A.M.T., TELES, J.B.M. Consumo alimentar de adolescentes matriculados em um colégio particular de Teresina, Piauí, Brasil. Rev. Nutr., vol.14, no.2, p.85-93,2001.

CAZZOLATO, G.; AVOGARRO, P.; BITTOLO-BOM, G. Characterization of a more electronegatively charged LDL subfraction by ion exchange HPLC. Free Rad. Biol. Med., v. 11, p. 247-253, 1991.

CHANG, Y. H.; ABDALLA, D. S. P.; SEVANIAN, A. Characterization of cholesterol oxidation products formed by oxidative modification of low density lipoprotein. Free Rad. Biol. Med., v. 2, p. 202-214, 1997.

CHEN, M., MASAKI, T., SAWAMURA, T. LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. Pharmacol Ther 2002; 95(1): 89-100.

COLE, T.J, BELLIZZI, K. M. F., DIETZ, W.H. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. BMJ n.320, p.1-6, 2000.

CONDE, W.L., MONTEIRO, C.A. Body mass index cutoff points for evaluation of nutritional status in Brazilian children and adolescents. J Pediatr.,v.82 (4),p.266-72, 2006.

CONSOLIM-COLOMBO, F. M., ATALA, M. M. Síndrome metabólica como fator de risco para insuficiência cardíaca. Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo. v.14, n.4, p. 616-629, 2004.

CONTALDO, F. PASANISI, F. Obesity epidemics: simple or simplistic answers? Clinical Nutrition, v.24, p. 1-4, 2005.

COSTA, R. F. Avaliando a Composição Corporal. In: HIRSCHBRUCH, M. D.; CARVALHO, J. R. Nutrição Esportiva. São Paulo: Manole, 2002.

CUGNETTO ML, SAAB PG, LLABRE MM, GOLDBERG R, MCCALLA JR, SCHNEIDERMAN N, Lifestyle Factors, Body Mass Index, and Lipid Profile in Adolescents. Journal of Pediatric Psychology pp. 1–11, 2007

DAMASCENO, Nágila Raquel Teixeira. Influência das isoflavonas extraídas da soja na hipercolesterolemia e na aterosclerose experimental induzida pela caseína. 2001, 118 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo.

DARYANI, A., BASU, S., BECKER, W., LARSSON, A., RISÉRUS, U. Antioxidant intake, oxidative stress and inflammation among immigrant women from the Middle East living in Sweden: associations with cardiovascular risk factors. Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases, 2006. *in press*

DE CASTELLARNAU C, BANCELLS C, BENÍTEZ S, REINA M, ORDÓÑEZ-LLANOS J, SÁNCHEZ-QUESADA JL. Atherogenic and inflammatory profile of human arterial endothelial cells (HUAEC) in response to LDL subfractions. Clinica Chimica Acta 376 (2007) 233–236.

DE CASTELLARNAU, C., SÁNCHEZ-QUESADA, J.L., BENÍTEZ, S., ROSA, R., CAVEDA, L., VILA, L., ORDÓÑEZ-LLANOS, J. Eletronegative LDL from normolipidemic subjects induces IL-8 and monocyte chemotactic protein secretion by human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. v. 20, p.2281-2287.

DECSI T, MOLNÁR D, KOLETZKO B. Reduced plasma concentrations of alpha- tocopherol and beta-carotene in obese boys. *J Pediatr* 1997;130:653-5.

DEJAGER, S.; BRUCKERT, E.; CHAPMAN, M. J. Dense low density lipoprotein subspecies with diminished oxidative resistance predominance in combined hyperlipidemia. *J.Lipid Res.*, v. 34, p. 295-308, 1993.

DEMUTH, K.; MYARA, I.; CHAPPEY, B.; VEDIE, B.; PECH-AMSELLEM, M. A.; HABERLAND, M. E.; MOATTI, N. A cytotoxic electronegative LDL subfractions is present in human plasma. *Arterioscl. Thromb Vasc Biol.*, v.16, p. 773-783, 1996.

EDMUNDS L, WATER E, ELLIOTT EJ. Evidence based management of childhood obesity. *BMJ* 2001;323:916-9.

EISENSTEIN, E., COELHO, K.S.C., COELHO, S.C., COELHO, M. A. S. C. Nutrição na adolescência. *J Pediatr*, v.76 (Supl 3), p. 263-274, 2000.

ESTEVE, E., RICART, W., FERNÁNDEZ-REAL, J. M. Dyslipidemia and inflammation: an evolutionary conserved mechanism. *Clinical Nutrition*, v. 24, p. 16-31, 2005.

FEDERAÇÃO LATINO-AMERICANA DE SOCIEDADES DE OBESIDADE (FLASO). Documento do Consenso Latino-Americano em Obesidade. Santiago, Chile, 1998.

FERNÁNDEZ, J. R., REDDEN, D. T., PIETROBELLI, A., ALLISON, D. B. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of African-american, European-american, and Mexican-american children and adolescents. *The Journal of Pediatrics*, v. 145, p.439-444, 2004.

FERREIRA, H. S. *et al.* Estado nutricional de crianças menores de dez anos residentes em invasão do "Movimento dos Sem-Terra", Porto Calvo, Alagoas. *Cadernos de Saúde Pública*, v.13 n.1 Rio de Janeiro jan./mar. 1997.

FISBERG, M. Atualização em obesidade na infância e adolescência. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005.

FRANCA E, ALVES JGB. Dyslipidemia among adolescents and children from Pernambuco. *Arq. Bras. Cardiol.* vol.87 no.6 São Paulo Dec. 2006

FREEDMAN DS, DIETZ WH, SRINIVASAN SR, BERENSON GS. The relation of overweight to cardiovascular risk factors among children and adolescents: The Bogalusa Heart Study. *Pediatrics* 1999; 103(6 Pt 1):1175-82.

FRENCH SA, STORY M, JEFFERY RW. Environmental influences on eating and physical activity. *Annu Rev Public Health*. 2001;22:309-35.

FRIEDEWALD, W.T, LEVI, R.I., FREDRICKSON, D. S. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparatives ultracentrifuge. *Clin Chem*, v. 18, p.499-502, 1972.

FRISANCHO, A.R. Anthropometric Standards for the Assessment of Growth and Nutritional Status. The University of Michigan Press, 1991.

Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Tabela de Composição de Alimentos, 4a. edição, Rio de Janeiro: IBGE, 1996.

GAMBARDELLA, A.M.D. Adolescentes, estudantes de período noturno: como se alimentam e gastam suas energias. São Paulo, 1996. p.42-60. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, da Universidade de São Paulo, 1996.

GARCIA, G.C.B., GAMBARDELLA, A. M. D., FRUTUOSO, M. F. P. Estado nutricional e consumo alimentar de adolescentes de um centro de juventude de São Paulo. Rev Nutr, v.16, n.1, p. 45-50, 2003.

GIL-CAMPOS, M., CANETC, R., GIL, A. Adiponectin, the missing link in insulin resistence and obesity. Clinical Nutrition, v.23, p. 963-974, 2004.

GIULIANO, I.C.B., CARAMELLI, B., PELLANA, L., DUNCAN, B., MATTOS, S., FONSECA, F.H. I Diretriz de prevenção da aterosclerose na infância e adolescência. Arq Bras Cardiol, v.5,.s.VI, p.1-36, 2005.

GIULIANO, I.C.B., COUTINHO, M.S.S.A., FREITAS, S.F.T., PIRES, M.M.S., ZUNINO, J.N., RIBEIRO, R.Q.C. Lípides séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis, SC. Arq Bras Cardiol, v. 85, n.2, p.85-91, 2005.

GORDON-LARSEN P, ADAIR L. S., NELSON, M.C.,POPKIN, B. M. Five year obesity incidence in the transition period between adolescence and adulthood: the National Longitudinal Study of Adolescent Health. Am j Clin Nutr, v. 80, p. 569-575, 2004.

GRANOT, E., KOHEN, R. Oxidative stress in childhood – in health and disease states. Clinical Nutrition, v. 23, p.3-11, 2004.

GREENBERG, A. S., OBRIN, M.S. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nut, v.83, p.461S-465S, 2006.

GRILLO, L.P., CRISPIM, S.P., SIEBERT, A.N., ANDRADE, A.T. W., ROSSI, A., CAMPOS, I. C. Perfil lipídico e obesidade em escolares de baixa renda. Rev Bras Epidemiol, v.8, n.1, p.75-81, 2005.

GURAN O, AKALIN F, AYABAKAN C, DERELI FY, HAKLAR G. High-sensitivity C-reactive protein in children at risk for coronary artery disease. Acta Paediatr. 2007 Aug;96(8):1214-9.

HALL, J.E., CROOK, E.D., JONES, D.W., WOFFORD, M.R., DUBBERT, P.M. Mechanisms of obesity-associated cardiovascular and renal disease. Am J Med Sci. 2002. v.324, p. 127-137.

HALPERN A, SEGAL A, RIBEIRO AB, GARRIDO A, MADY C, FERNANDES F, et al. Diretrizes para Cardiologistas sobre Excesso de Peso e Doença Cardiovascular dos Departamentos de Aterosclerose, Cardiologia Clínica e FUNCOR da Sociedade Brasileira de Cardiologia. Arq Bras Cardiol. 2002;78:S1-13.

HAVEL, R. J.; EDER, H, A.; BRAGDON, J. H. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoprotein in human serum. J Clin Invest., v. 32, p. 1345-1353, 1955.

HILL, J. O., TROWBRIDGE, F.L.. Childhood obesity: future directions and research priorities. Pediatrics, v. 101, p. 570-574, 1998.

HODIS, H. N.; KRAMSCH, D. M.; AVOGARRO, P.; BITTOLO-BON, G.; CAZZOLATO, G.; HWANG, J.; PETERSON, H, SEVANIAN, A. Biochemical and citotoxic characteristic of an in vivo circulating oxidized low density lipoprotein (LDL-). J. Lipid Res., v. 35, p. 669-677, 1994.

HORKKO, S., BINDER, C.J., SHAW, P.X., CHANG, M.K., SILVERMAN, G., PALINSKI, W., et al. Immunological responses to oxidized LDL. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(12):1771-9.

IBGE, Censo Demográfico 2000. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2000/populacao/tabela_brasil.shtm?c=1. Acesso em: 27/10/2004.

IBGE. Antropometria e Análise do estado nutricional de Crianças e Adolescentes no Brasil. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), 2002-2003. 2006.

IUGHETTI, L.; VOLTA, C.; MAGGI, E.; PALLADINI, G.; PERUGINI, C.; BELLOMO, G.; BERNASCONI, S. Circulating Antibodies Recognizing Oxidatively Modified Low-Density Lipoprotein in Children. *Pediatric Research*. v. 45(1) p 94-99,1999.

JAMES, M. J.; VAN REYK, D.; RYE, K. A.; DEAN, R. T.; CLELAND, L. G.; BARTER, P. J.; JESSUP, W. Low density lipoprotein of synovial fluid in inflammatory joint disease is mildly oxidized. *Lipids*, v. 33, p. 1115-1121, 1998.

KAMIGAKI, M., SAKAUE, S., TSUJINO, I., OHIRA, H., IKEDA, D., ITOH, N., ISHIMARU, S., OHTSUKA, Y., NISHIMURA, M. Oxidative stress provokes atherogenic changes in adipokine gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, n. 339, p.624-632, 2006.

KAMIMURA, M. A. *et al* Avaliação Nutricional. In: CUPPARI, L. *Nutrição Clínica no Adulto*. São Paulo: Manole, 2002. p. 71-109.

KAZAPI, I.M., DI PIETRO, P.F., AVANCINI, S.R.P. Consumo de energia e macronutrientes por adolescentes de escolas públicas e privadas. *Rev. Nutr.*, vol.14 supl, p.27-33, 2001.

KELISHADI R, NADERY GA, ASGARY S. Oxidized LDL metabolites with high family risk for premature cardiovascular disease. *Indian J Pediatr* 2002;69:755–9.

KELISHADI R., SHARIFI M., KHOSRAVI A., ADELI K. Relationship Between C-Reactive Protein and Atherosclerotic Risk Factors and Oxidative Stress Markers Among Young Persons 10–18 Years Old. *Clinical Chemistry* 53:3 456–464 (2007)

KELLEY D.S. Modulation of Human Immune and inflammatory Responses by Dietary Fatty Acids. *Nutrition* 2001;17:669–673.

KOENIG W, SUND M, FRÖHLICH M, FISCHER HG, LÖWEL H, DÖRING A, HUTCHINSON WL, PEPYS MB. C-Reactive Protein, a Sensitive Marker of Inflammation, Predicts Future Risk of Coronary Heart Disease in Initially Healthy Middle-Aged Men : Results From the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992 1999;99;237-242 *Circulation*

KOVANEN, P.T., PENTIKAINEN, M.O. Circulating lipoproteins as proinflammatory and anti-inflammatory particles in atherogenesis. *Curr Opin Lipidol* 2003; 14(5):411-9.

LEE, Y. H., PRATLEY, R. E. The evolving role of inflammation in obesity and metabolic syndrome. *Curr Dia Rep*, USA, v.5, n. 1, p.70-75, 2005.

LIETZ, G., BARTON, K.L., LONGBOTTOM, P.S., ANDRESON, A.S. Can the EPIC food-frequency questionnaire be used in adolescent population? *Public Health Nutr*, v. 5, n. 6, p.783-9, 2002.

LIMA ES, MARANHÃO RC. Rapid, simple laser light-scattering method for HDL particle sizing in whole plasma. *Clinical Chemistry* 2004;50(6):1086-8.

LIMA, R. T. *et al.* Educação em saúde e nutrição em João Pessoa, Paraíba. *Revista de Nutrição*. Campinas, 13 (1): 29-36, jan./abr., 2000.

LIUBA P, PERSSON J, LUOMA J, YLA-HERTTUALA S, PESONEN E. Acute infections in children are accompanied by oxidative modification of LDL and decrease of HDL cholesterol, and are followed by thickening of carotid intima-media. *Eur Heart J*. 2003;24; 515-21.

LOPES-VIRELLA, M.F., VIRELLA, G. Immune mechanisms of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Diabetes* 1992; 41(Suppl 2):86-91.

LOURENÇO B.H., ARTHUR T., RODRIGUESA M.D.B, GUAZZELLIA I., FRAZZATTO E., DERAMA S., NICOLAUA C.Y., HALPERN A., VILLARES S.M.F. Binge eating symptoms, diet composition and metabolic characteristics of obese children and adolescents. *Appetite* 2007 *in press*.

MACKERRAS, D. Energy adjustment: the concepts underlying the debate. *J Clin Epidemiol*, v. 49, n. 9, p. 957-962, 1996.

MAGNONI, D., CUKIER, C. Perguntas e respostas em nutrição clínica. São Paulo: Rocca, 2001.

MAHLEY, R.W., WEISGRABER, K.H., FARESE, R.V. Disorders of Lipid Metabolism. In: Williams – Textbook of Endocrinology, 10 edition, Ed. Elsevier Science, 2003, p. 1646-52.

MANDATO C, LUCARIELLO S, LICENZIATI MR, FRANZESE A, SPAGNUOLO MI, FICARELLA R, PACILIO M, AMITRANO M, CAPUANO G, MELI R, VAJRO P. Metabolic, hormonal, oxidative, and inflammatory factors in pediatric obesity-related liver disease. *J Pediatr*. 2005 Jul;147(1):62-6.

MARTINS, I.S., MARINHO, S. P. The potencial of central obesity anthropometric indicators as diagnostic tools. *Rev Saúde Pública*, v. 37, n.6, p.760-767, 2003.

MATSUZAWA, Y., FUNAHASHI, T., NAKAMURA, T. Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines, adipocyte-derived, bioactive substance. *Annals New York Academy of Science*, 1999.

MAUGHAN, R. J., BURKE, L. M. *Nutrição esportiva*. Porto Alegre: Artmed, 2004.

MELLO, M. M. S. *Nutrição infantil: uma receita de saúde*. Porto Alegre: Mediação, 2003.

MERTENS, A., VERHAMME, P., BIELICKI, J.K., PHILLIPS, M.C., QUARCK, R., VERRETH, W. STENGEL, D., NINIO, E., NAVAB, M. MACKNESS, B., MACKNESS, M., HOLVOET, P. Increased low-density lipoprotein oxidation and impaired high-density lipoprotein antioxidant defense are associated with increased macrophage homing and atherosclerosis in dyslipidemic obese mice: LCAT gene transfer decreases atherosclerosis. *Circulation*, 2003. v. 107, p.1640-1646.

MIRCH M.C., MCDUFFIE J.R., YANOVSKI S.Z., SCHOLLNBERGER M., TANOFKY-KRAFF M., THEIM K.R., KRAKOFF J., YANOVSKI J.A. Effects of binge eating on satiation, satiety, and energy intake of overweight children. *Am J Clin Nutr* 2006;84:732– 8.

MOLNÁR, D., DECSI, T., KOLETZKO, B. Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. *International Journal of Obesity*, 2004. v. 28, p. 1197-1202.

MONTEIRO, C. A. Velhos e Novos Males da Saúde no Brasil: Evolução do País e suas Doenças. São Paulo: Editora Hucitec/Universidade de São Paulo, 1995.

MOULTON, K. S.; VAKILI, K.; ZURAKOWSKI, D.; SOLIMAN, M.; BUTTERFIELD, C.; SYLVIN, E.; LO, K. M.; GILLIES, S.; JAVAHERIAN, K.; FOLKMAN, J. Inhibition of plaque neovascularization reduces macrophage accumulation and progression of advanced atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci*. v. 100, n. 8, p. 4736-41, 2003.

MUENINIG, P. The body politic: the relationship between stigma and obesity-associated disease. *BMC Public Health* 2008; 8:128.

NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS (NCHS): Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. May, 2000. Disponível em: <http://www.cdc.gov/growthcharts>. Acesso em 05 mar. 2006.

NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS (NCHS): Vital and Health Statistics. Series 11, n. 238, 1976-1980.

NEEDLMAN, R. D. Os Primeiros Anos Escolares. In: BEHRMAN, R. E.; KLIEGMAN, R. M.; JENSON, H. B. *Tratado de Pediatria*. 16 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 52 – 54.

NEUMARK-SZTAINER D, WALL M, GUO J, STORY M. Obesity, Disordered Eating, and Eating Disorders in a Longitudinal Study of Adolescents: How Do

Dieters Fare 5 Years Later?. Journal of the American Dietetic Association 2006;106(4):559-568.

NIKI, E.; NOGUCHI, N.; TSUCHIHASHI, H.; GOTOH, N. Interaction among vit C, vit E and β -carotene. Am J Clin Nutr. v. 62 (S), p. 1322-6S, 1995.

Nutrient Database for Standard Reference Release - U.S. Department of Agriculture. 2005. Disponível em: <http://www.usda.gov/>. Acesso em: 10 out. 2005.

OCHSENHOFER, K.; FIORE, E. G.; COSTA, E. C. Avaliação do estado nutricional de crianças e adolescentes institucionalizados. Nutrição em Pauta. Ano XII, n. 65, mar./abr., 2004.

OMS. Nutrition in adolescence Issues and Challenges for the Health Sector. Geneva: WHO; 2005.

ORCHARD, T.J., VIRELLA, G., FORREST, K.Y., EVANS, R.W., BECKER, D.J., LOPES-VIRELLA, M.F. Antibodies to oxidized LDL predict coronary artery disease in type 1 diabetes: a nested case-control study from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. Diabetes 1999; 48(7):1454-8.

PALINSKI, W., ORD, V.A., PLUMP, A.S., BRESLOW, J.L., STEINBERG, D., WIZUM, J.L. ApoE-deficient mice are a model of lipoprotein oxidation in atherogenesis. Demonstration of oxidation-specific epitopes in lesions and high titers of autoantibodies to malondialdehyde-lysine in serum. Arterioscler Thromb 1994; 14(4):605-16.

PASS. Power Analysis and Sample Size (computer software). NCSS, Kaysville, Utah, USA, 2005.

PELLANDA, L. C., ECHENIQUE, L., BARCELLOS, L. M. A., MACARRI, J., BORGES, F. K., ZEN, B. L. Doença cardíaca isquêmica: a prevenção inicia durante a infância. J Pediatr. v. 78, n. 2, p. 91-96, 2002.

PHILIPPI ST. Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional. 2ª ed. São Paulo: Coronário, 2002.

PINHEIRO ABV, LACERDA EMA, BENZECRY EH et al. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. 4ª ed. Rio de Janeiro, São Paulo, Belo Horizonte: Atheneu, 2001.

PUBLIO, N. S. História da Ginástica Olímpica. Revista Brasileira de Ciência e Movimento. v. 6, n. 1, p. 88-90, 1992.

RAMOS, V. A., RAMOS, P. A., DOMINGUEZ, M.C. Papel do estresse oxidativo na manutenção da inflamação em pacientes com artrite reumatóide juvenil. J Pediatr, v. 76, n. 2, p. 125-132, 2000.

REAVEN, P.D., NAPOLI, C., MERAT, S., WIZUM, J.L. Lipoprotein modification and atherosclerosis in aging. Exp Gerontol 1999; 34(4):527-37.

RIBEIRO, B. G., SOARES, E. A. Avaliação do estado nutricional de atletas de ginástica olímpica do Rio de Janeiro e São Paulo. Revista de Nutrição. v.15, n. 2, p.181-191. 2002

ROH EJ, LIM JW, KO KO, CHEON EJ. A Useful Predictor of Early Atherosclerosis in Obese Children: Serum High-sensitivity C-reactive Protein. J Korean Med Sci 2007; 22: 192-7

ROSENBAUM M, LEIBEL RL. The physiology of body weight regulation: relevance to the etiology of obesity in children. Pediatrics 1998;101(3):525-39.

ROSS, R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2):115-26.

RUBIO, K. *et al.* Iniciação esportiva e especialização precoce: as instâncias psico-sociais presentes na formação esportiva de crianças e jovens. *Revista Metropolitana de Ciências do Movimento Humano*. São Paulo, Ano 4, n. 1, 2000

SAMPEI, M. A. *et al.* Adolescência: Estado nutricional, práticas e distúrbios alimentares e atividade física. *Revista Compacta*. v. 3, n. 3. p. 7-18, Out/2002.

SÁNCHEZ-QUESADA JL, CAMACHO M, ANTÓN R, BENITEZ S, VILA L, ORDÓÑEZ-LLANOS J. Electronegative LDL of FH subjects: chemical characterization and induction of chemokine release from human endothelial cells. *Atherosclerosis* 166 (2003) 261_/270

SÁNCHEZ-QUESADA, J. L., S. BENÍTEZ, C. OTAL, M. FRANCO, F. BLANCO-VACA, J. ORDÓÑEZ-LLANOS. Density distribution of electronegative LDL in normolipemic and hyperlipemic subjects. *J. Lipid Res.* 2002. 43: 699–705.

SANTOS, W. B., MESQUITA, E. T., VIEIRA, R. M.R., OLEJ, B., COUTINHO, M., AVEZUM, A. Proteína c reativa e doença cardiovascular: as bases da evidência científica. *Arq Bras Cardiol*, v. 8, n.4, p. 452-456, 2003.

SCHMIDT, M. I., SAAD, M. J. A., DUNCAN, B. B. Subclinical inflammation and obesity, diabetes and related disorders. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms – Metabolic disorder*, v.2, n.3, p.307-312, 2005.

SEKI M, SEKI MO, SEKI MO, LIMA AD, ONISHI MH, SEKI MO, et al. Estudo do perfil lipídico de crianças e jovens até 19 anos de idade. J Bras Patol Med Lab. 2001;37:247-51.

SEVANIAN A, ASATRYAN L, ZIOUZENKOVA O. Low Density Lipoprotein (LDL) Modification: Basic Concepts and Relationship to Atherosclerosis. Blood Purif 1999; 17:66-78.

SEVANIAN A, HWANG J, HODIS H, CAZZOLATO G, AVOGARRO P, BITTOLO-BON G. Contribution of an in vivo oxidized LDL to LDL oxidation and its association with dense LDL subpopulations. Arterioscl Thromb Vasc Biol. 1996;16:784-93.

SEVANIAN, A.; BITTOLO-BON, G.; CAZZOLATO, G.; HODIS, H.; HWANG, J.; ZAMBURLINI, A.; MAIORINO, M.; URSINI, F. LDL- is a lipid hydroperoxide-enriched circulating lipoprotein. J. Lipid Res., v. 38, p. 419-428, 1997.

SEVANIAN, A.; HWANG, J.; HODIS, H.; CAZZOLATO, G.; AVOGARRO, P.; BITTOLO-BON, G. Contribution of an in vivo oxidized LDL to LDL oxidation and its association with dense LDL subpopulations. Arterioscl Thromb Vasc. Biol., v. 16, p. 784-793, 1996.

SHOJI, T., NISHIZAWA, Y., FUKUMOTO, M., SHIMAMURA, K., KIMURA, J., KONDA, H., et al. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. Atherosclerosis 2000; 148(1):171-7.

SIEMIANOWICZ K, GMIŃSKI J, FRANCUZ T, WÓJCIK A, POSIELEZNA B. Activity of antioxidant enzymes in children from families at high risk of premature coronary heart disease. Scand J Clin Lab Invest. 2003;63:151-8.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. Am J Clin Nutr. v. 62 (6S), p. 1315S-1321S, 1995.

SIES, H.; STAHL, W.; SEVANIAN, A. Nutritional, dietary and post prandial oxidative stress. J Nutr. v. 135, n. 5, p. 969-72, 2005.

SIGULEM, D. M. *et al.* Diagnóstico do estado nutricional da criança e do adolescente. Jornal de Pediatria. v. 76, supl. 3. p. S275-S284, 2000.

SILVA L.S.V., VEIGA GV, RAMALHO RA, Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. Nutrition: 23 (2007) 392–397

SILVA, R.C.Q., MIRANDA, W.L., CHACRA, A.R., DIB, S.A. Insulin resistance, β -cell function, and glucose tolerance in Brazilian adolescents with obesity or risk factors for type 2 diabetes mellitus. Journal of Diabetes and Its Complications, 2007. v. 21, p 84-92.

SILVER, A. E., BESKE, S.D., CHRISTOU, D.D., DONATO, A.J., MOREAU, K.L., ESKURZA, I., GATES, P.E., SEALS, D.R. Overweight and obese humans demonstrate increased vascular endothelial NAD(P)H oxidase-p47 phox expression and evidence of endothelial oxidative stress. Circulation, 2007. v.115, p. 627-637.

SIQUEIRA, Antonela Afa ; ABDALAH, D. ; FERREIRA, S. R. G. . LDL: da síndrome metabólica à instabilização da placa aterosclerótica.. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, Sao Paulo, v. 50, p. 334-343, 2006.

SLATER, B., FISBERG, M.R., PHILLIPI, S.T., LATORRE, M.R.D.O. Validation of semi-quantitative adolescents food frequency questionnaire

applied at public school in São Paulo, Brazil. Eur J Clin Nutr, v.57, p. 629-635, 2003.

SPSS Incorporation. Statistical package for the social science for windows student version/ SPSS (computer program) release 13.0 Chicago: marketing department, 2000.

STEINBERG, D., PARTHASARATHY, S., CAREW, T.E., KHOO, J.C., WITZUM, J.L. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. N Engl J Med 1989; 320(14): 915-24.

ST-PIERRE, A.C., RUEL, I. L., CANTIN, B., DAGENAIS, G.R., BERNARD, M.P., DESPRES, J.P., et al. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. Circulation 2001; 104(19):2295-9.

STRYER, L. Biosynthesis of membrane lipids and steroids. In: Stryer Biochemistry, 4 edition, W. H. Freeman and Company, 1996, p. 697-8.

STUMP, S. E. Adolescência. In: STUMP, S. E. Nutrição relacionada ao diagnóstico e tratamento. 4 ed. São Paulo: Manole, 1999. p. 19-21.

SUÑÉ FR, DIAS-DA-COSTA JS, OLINTO MTA, PATTUSSI MP. Prevalência e fatores associados para sobrepeso e obesidade em escolares de uma cidade no Sul do Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 23(6):1361-1371, jun, 2007

SUR H, KOLOTOUROU M, DIMITRIOU M, KOCAOGLU B, KESKIN Y, HAYRAN O, et al. Biochemical and behavioral indices related to BMI in schoolchildren in urban Turkey. Prev Med. 2005; 41:614-21.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos/ NEPA – UNICAMP. Versão 1. Campinas. 2004.

TOMITA LY, CARDOSO MA. Relação de medidas caseiras, composição química e receitas de alimentos nipo-brasileiros. 1ª ed. São José do Rio Preto: FAMERP, 2000.

TOURINHO FILHO, H.;TOURINHO, L.S.P.R. Crianças, adolescentes e atividade física: aspectos maturacionais e funcionais. Revista Paulista de Educação Física. São Paulo, v.12, n. 1, p. 71-84, Jan/Jun 1998.

TROIANO, R. P., FLEGAL, K. M. Overweight children and adolescents: Description, epidemiology and demographics. Pediatrics, 1998 101(Sup. 3): 497-504.

TURANO, W.; ALMEIDA, C. C. C. Educação Nutricional. In: GOUVEIA, E. L. Nutrição Saúde e Comunidade. 2 ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1999. p. 57-77.

TURK, Z. SESTO, M., SKODLAR, J., FERENCAK, G., TURK, N., STAVLJENIC-RUKAVINA, A. Soluble LDL-immune complexes in type 2 diabetes and vascular disease. Horm. Metab. Res. v. 34, p.196-201, 2002.

VEIGA GV, CUNHA AS, SICHIERI R. Trends in overweight among adolescents living in the poorest and richest regions of Brazil. Am J Public Health 2004;94:1544-8.

VEIGA, G. V.; BURLANDY, L. Indicadores sócio-econômicos, demográficos e estado nutricional de crianças e adolescentes residentes em um assentamento rural do Rio de Janeiro. Cadernos de Saúde Pública. v.17 n.6 Rio de Janeiro nov./dez. 2001.

VICTORA, C. G. *et al.* Estimativa da prevalência de déficit de altura/idade a partir da prevalência de déficit de peso/idade em crianças brasileiras. Rev. Saúde Pública v. 32 n. 4 São Paulo ago. 1998.

VISSER M, BOUTER LM, MCQUILLAN GM, WENER MH, HARRIS TB, Low-Grade Systemic Inflammation in Overweight Children. PEDIATRICS Vol. 107 No. 1 January 2001.

VOCI, S. M. Estudo de calibração do Questionário de Frequência Alimentar para Adolescentes- QFAA a ser utilizado em um estudo de coorte de escolares de Piracicaba, SP. 2006, 146p. Tese (Metrado em Saúde Pública). Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.

WAITZBERG, D.L. Nutrição oral, enteral e parental na prática clínica. São Paulo: Ed. Atheneu, 2000.

WAJCHENBERG, B.L. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. Endocr Rev 2000; 21(6):697-738.

WEISS, R., DZIURA, J., BURGERT, T.S., TAMBORLANE, W.V., TAKSALI, S.E., YECKEL, C.W., et al. Obesity and the Metabolic Syndrome in Children and Adolescents. N Engl J Med 2004;350:2362-74.

WHO (*World Health Organization*). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO Technical Report Series, n. 854, 1995.

WHO. Nutrition in adolescence Issues and Challenges for the Health Sector. Geneva, 2005.

WHO. Obesity and Overweight. [acesso em 08/09/2007]. Disponível em: http://www.who.int/dietphysicalactivity/media/en/gsfs_obesity.pdf.

WHO. Physical Status. The use and interpretation of anthropometry. Technical Reports Series 854. Geneva, 1995.

WILLET W, STAMPFER M. Implications of total energy intake for epidemiologic analyses. In: Willet W. Nutritional epidemiology. 2 ed, New York: Oxford University Press. 1998.

YLA-HERTTUALA, S., PALINSKI, W., ROSENFELD, M.E., PARTHASARATHY, S., CAREW, T.E., BUTLER, S., et al. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. J Clin Invest 1989; 84(4):1086-95.

YOUNG IS, MCENENY J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. Biochem Soc Trans. 2001;29:358-62.

ZEFERINO A.M.B., BARROS FILHO A.A, BETTIOL H., BARBIERI M.A.. Monitoring growth. Pediatr (Rio J) 2003;79 Suppl 1:S23-S32.

Anexos

Anexo 1

Termo de consentimento esclarecido

Eu, _____, brasileiro(a), residente e domiciliado(a) a rua _____, após ter recebido todas as explicações sobre os riscos e vantagens do estudo cujo título é: INFLUÊNCIA DO SOBREPESO E DA OBESIDADE EM ADOLESCENTES NA GERAÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE ELETRONEGATIVA (LDL-), autorizo _____ o(a) _____ adolescente _____ a participar deste estudo. Para a realização do mesmo, será coletada 1 amostra de sangue (20,0 ml), além de informações físicas e alimentares do adolescente. Todos os resultados obtidos estarão a minha disposição, sendo a identidade de meu filho(a) mantida em total sigilo. Fui informado(a) ainda que tenho o direito de me retirar deste projeto a qualquer tempo, sendo que tenho ciência que devolvarei todos os materiais fornecidos pela equipe de pesquisadores caso desista de participar deste projeto. Com a participação do meu filho neste estudo não terei despesas financeiras com qualquer procedimento. Este projeto será desenvolvido pelo Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade São Paulo, sob a responsabilidade e coordenação da Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno. O presente documento será assinado em duas vias, sendo uma entregue ao responsável pelo adolescente.

São Paulo, ____ de _____ de 20____

Pais ou Responsável

RG e CPF:

Maiores esclarecimentos:

Faculdade de Saúde Pública / Departamento de Nutrição

Av. Dr. Arnaldo, 715 - Cerqueira César

CEP: 01246-904 – São Paulo – SP

Telefone para contato: (11) 3061-7701 ramal: 220 / Fax: (11) 3061-7701

Anexo 2

Universidade de São Paulo

Faculdade de Saúde Pública

COMITÊ DE ÉTICA - COEP

Av. Dr. Arnaldo, 715 – CEP 01246-904 – São Paulo – Brasil
Telefones: (55-11) 3066- 7779/7742 – 0 – e-mail: coep@fsp.usp.br

Of.COEP/58/05

01 de março de 2005

Prezada Professora,

Pelo presente, informo que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo-COEP **aprovou** de acordo com os requisitos da Resolução CNS/196/96, o Protocolo de Pesquisa n.º 1223, intitulado: “INFLUÊNCIA DO SOBREPESO E DA OBESIDADE EM ADOLESCENTES NA GERAÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE ELETRONEGATIVA (LDL)”.

Atenciosamente,

Eunice Aparecida Bianchi Galati

Professora Doutora

Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da FSP-COEP

Ilmª Srª

Profª Nágila Raquel Teixeira Damasceno
Departamento de Nutrição

Anexo 3

Formulário de Identificação e Avaliação Antropométrica

DATA _____

Nome _____

Endereço _____

—

Telefone _____

Sexo _____ Idade _____

Série _____

Quantos membros tem sua família? _____

Renda média per capita _____

Usa algum medicamento e/ou vitaminas?

Qual? _____

Frequência? _____

Indicação? _____

—

Tem algum tipo de doença? Qual?

Na sua família tem alguém com:

Diabetes () SIM () NÃO Quem? _____

Hipertensão () SIM () NÃO Quem? _____

Doença cardíaca () SIM () NÃO Quem? _____

Câncer () SIM () NÃO Quem? _____

AVC () SIM () NÃO Quem? _____

Já fez algum tipo de cirurgia? Qual?

Pratica algum esporte? Qual?

Qual a frequência, duração?

Pratica esporte desde quando?

Peso _____ Altura _____ IMC _____

CC _____ CB _____

Anexo 4

2 to 20 years: Boys
Body mass index-for-age percentiles

NAME _____

RECORD # _____

Published May 30, 2000 (modified 10/16/00).
SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).
<http://www.cdc.gov/growthcharts>

SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™

2 to 20 years: Girls
Body mass index-for-age percentiles

NAME _____

RECORD # _____

Published May 30, 2000 (modified 10/16/00).
SOURCE: Developed by the National Center for Health Statistics in collaboration with
the National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (2000).
<http://www.cdc.gov/growthcharts>

Anexo 5

QUESTIONÁRIO : FREQUÊNCIA ALIMENTAR (QFAA)

I. Doces, salgadinhos e guloseimas:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B1. Batatinha tipo chips ou Salgadinho	1/2 pacote grande							
B2. Chocolate/ Brigadeiro	1 tablete/ 1 barrinha peq/ 3 unidades peq							
B3. Bolo comum/ Bolo Pullman	1 fatia média							
B4. Sorvete massa/ palito	2 bolas/ 1 unidade							
B5. Achiocolatado em pó (Nescau, Quick, etc.)	2 colheres de sopa rasa							
B6. Pipoca estourada (doce ou salgada)	1 saco médio de pipoqueiro							
B7. Açúcar adicionado em café, chá, leite, etc.	2 colheres sobremesa							
B8. Balas	2 unidades							
B9. Doces de frutas (goiabada, marmelada, doce abóbora)	1 fatia fina/ 1 unidade média							
B10. Sobremesas tipo mousse	1 taça/ 1 pote							
B11. Croissant de chocolate	1 unidade média							

II. Salgados e preparações:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B12. Cheesebúrguer de carne/ frango	1 sanduíche							
B13. Sanduíche (misto, queijo, frios ou quentes)	1 sanduíche							
B14. Sanduíche natural	1 sanduíche							
B15. Coxinha/ Risólis/ Pastel/ Enroladinho frito de presunto e queijo	1 unidade média							
B16. Pão de queijo	1 unidade média							
B17. Esfiha / Empada / Pão de Batata / Enroladinho assado de presunto e queijo	1 unidade média							
B18. Salada de batata com maionese	1 colher de servir							
B19. Sopa (canja, feijão, legumes)	1 prato fundo							
B20. Farofa (de farinha de mandioca)	1 colher de servir							
B21. Pizza	1 fatia média							

B22. Cachorro quente	1 sanduíche								
B23. Croissant presunto e queijo	1 unidade média								

III. Leites e produtos lácteos:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B24. Leite integral	1 copo de requeijão cheio							
B25. Leite desnatado	1 copo de requeijão cheio							
B26. Leite fermentado (Yakult®)	1 garrafinha							
B27. Iogurte natural/ frutas	1 pote							
B28. Iogurte diet	1 pote							
B29. Queijo minas frescal/ ricota, cottage	1 fatia média							
B30. Requeijão	1 colher de sopa							

IV. Óleos e Gorduras:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B31. Maionese tradicional	1 colher de sopa							
B32. Manteiga (origem animal)	1 ponta de faca							
B33. Margarina (origem vegetal)	1 ponta de faca							
B34. Azeite de Oliva	1 colher de café							

V. Cereais, pães e tubérculos:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B35. Arroz cozido	4 colhs. de sopa/ 1½ colher de servir/ 1 escumad. grande							
B36. Macarrão/ instantâneo/ ao sugo/ manteiga	3 colheres de servir/ pegador							
B37. Massas (lasanha, raviole, capeleti)	1 pedaço médio/ 1 prato raso							
B38. Biscoitos sem recheio/ cream craker	15 unidades							
B39. Biscoitos com recheio	7 unidades							
B40. Pão francês/ forma/ integral/ caseiro/ pão de hot dog	1 1/2 unidade/ 3 fatias							

B41. Cereal matinal tipo Sucrilhos® / Barra de cereal	1 xícara de chá/ 1 unidade								
B42. Batatas fritas de palito	1 saquinho pequeno/ 1 colher de servir								
B43. Batatas (purê, sauté)	1 colher de servir								
B44. Polenta (cozida ou frita)	5 barrinhas médias/ 5 colheres de sopa								
B45. Mandioca cozida	2 pedaços médios								
B46. Pamonha doce/ salgada	1 unidade média								

VI. Verduras e legumes:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B47. Alface	1 porção / 6 folhas médias							
B48. Acelga/ repolho	2 colheres de servir							
B49. Agrião/ rúcula	3 ramos/ 5 folhas médias							
B50. Couve-flor	2 ramos médios							
B51. Beterraba	1 colher de servir							
B52. Cenoura	1 colher de servir							
B53. Espinafre/ couve	1 colher de servir							
B54. Ervilha	2 colheres de sopa							
B55. Milho verde	1 colher de sopa							
B56. Pepino	6 fatias médias							
B57. Tomate	3 fatias médias							

VII. Frutas:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B58. Abacate	½ unidade							
B59. Abacaxi	1 fatia média							
B60. Banana	1 unidade média							
B61. Laranja/ mexerica	1 unidade média							
B62. Maçã/ pêra	1 unidade média							
B63. Mamão	1 fatia média							
B64. Melão/ Melancia	1 fatia média							
B65. Manga	1/2 unidade média							
B66. Morangos	½ xícara de chá							
B67. Uva	1 cacho médio							

VIII. Feijão:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B68. Feijão (marrom ou preto)	1 ½ concha média							

IX. Carnes e Ovos:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B69. Carne cozida (bife role/ moída/ de panela/ picadinho)	1 fatia média/ 1 C.de servir/ 1 unidade média							
B70. Bife frito/ bife à milanesa	1 unidade média							
B71. Frango cozido/ assado/ grelhado/ frito	1 pedaço médio/ 1 unidade média							
B72. Peixe frito	1 filé médio/ posta							
B73. Carne suína (bisteca/ lombo)	1 unidade média/ 1 fatia média							
B74. Ovo frito/ mexido/ Omelete	1 unidade média/ 1 pedaço médio							
B75. Embutidos (presunto/ peito de peru, mortadela,	2 fatias médias							

salame etc)									
B76. Salsicha	1 1/2 unidade								
B77. Lingüiça	1 gomo médio								

X. Bebidas:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B78. Refrigerante normal	1 1/2 copo de requeijão/ 1 lata							
B79. Refrigerante diet	1 1/2 copo de requeijão/ 1 lata							
B80. Chá mate com sabor	1 lata							
B81. Suco de abacaxi com açúcar	1 copo de requeijão							
B82. Suco de laranja/ mexerica com açúcar	1 copo de requeijão							
B83. Suco de mamão com açúcar	1 copo de requeijão							
B84. Suco de melão/ melancia com açúcar	1 copo de requeijão							
B85. Limonada/ laranjada com açúcar	1 copo de requeijão							
B86. Sucos naturais com leite/ Vitaminas de frutas	1 copo de requeijão							
B87. Sucos artificiais	1 copo de requeijão							
B88. Café	1 xícara de café pequena							
B89. Cerveja	1 copo médio							
B90. Vinho	1 copo médio							
B91. Batida	1 copo médio							
B92. Água	1 copo de requeijão							
B93. Chimarrão	1 cuia							

XI. Outros:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia
B94. Adoçante gotas/ pó								

XII. Não mencionados:

ALIMENTO	QUANTIDADE	Nunca	menos de 1X mês	1 a 3X mês	1X por sem	2 a 4X sem	1X dia	2 ou mais X dia	
B95.									
B96.									
B97.									
B98.									
B99.									
B100.									
B101.									
B102.									
B103.									
B104.									