UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FCF / FEA / FSP
Programa de Pós-Graduação Interunidades
em Nutrição Humana Aplicada – PRONUT

Claudia Assef Sanibal

**Influência da Obesidade em Adolescentes sobre a
atividade da Paraoxonase (PON1) e o tamanho da
Lipoproteína de Alta Densidade (HDL)**

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno

São Paulo

2012

Claudia Assef Sanibal

**Influência da Obesidade em Adolescentes sobre a
atividade da Paraoxonase (PON1) e o tamanho da
Lipoproteína de Alta Densidade (HDL)**

Comissão Julgadora
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Beltrano de Tal
(Orientador/Presidente)

1º Examinador

2º Examinador

São Paulo, ____ de _____ de 2012

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

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

S227i	<p>Sanibal, Claudia Assef</p> <p>Influência da obesidade em adolescentes sobre a atividade da paraoxonase (PON1) e o tamanho da lipoproteína de alta densidade (HDL) / Claudia Assef Sanibal. -- São Paulo, 2012. 70p.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade da USP. Faculdade de Saúde Pública da USP. Curso Interunidades em Nutrição Humana Aplicada.</p> <p>Orientador: Damasceno, Nágila Raquel Teixeira</p> <p>1. Nutrição : Adolescência 2. Obesidade : Nutrição : Doenças metabólicas 3. Coração : Doença : Medicina I. T. II. Damasceno, Nágila Raquel Teixeira, orientador.</p> <p>641.1 CDD</p>
-------	---

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que sempre me acompanha e me ilumina.

Aos meus pais, José Paulo e Elaine, e a minha irmã, Paula, pelo incentivo, pela dedicação, amor, apoio e paciência.

Ao meu marido, Fernando, pelo companheirismo, amor, compreensão e apoio para elaboração desse trabalho.

À Prof. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno, pelo apoio, orientação, compreensão.

Aos funcionários da Faculdade de Saúde Pública, em especial, do departamento de Nutrição e da Pós- Graduação, por estarem a postos no esclarecimento das dúvidas.

As minhas amigas de infância, primas e as que convivem comigo diariamente, Carol, Fernanda, Cindy, Paulinha, Bruna, Marcela, Larissa, Camila pelas conversas e alegrias.

Às amigas de todos os dias, Ticiane, Paula, Isis, as alunas de IC, ao grupo CARDIONUTRI que no meio de tantas tarefas, dividimos angústias, alegrias e conquistas.

ÍNDICE

1	Introdução	10
	1.1 Aspectos Epidemiológicos das Doenças Cardiovasculares (DCV) e Obesidade	10
	1.2 Metabolismo Lipídico e Obesidade	12
	1.3 Papel Anti-aterogênico da HDL	15
	1.4 Paraoxonase	17
	1.5 Tamanho da HDL	18
2	Justificativa	22
3	Objetivo	23
	3.1 Objetivo Geral	23
	3.2 Objetivos Específicos	23
4	Métodos	24
	4.1 Casuística	24
	4.2 Cálculo Amostral	24
	4.3 Delineamento do Estudo	25
	4.4 Análise de Riscos e Benefícios	25
	4.5 Critérios de Inclusão	26
	4.6 Critérios de Exclusão	26
	4.7 Avaliação Sócio-Econômica e Clínica	26
	4.8 Avaliação Antropométrica	27
	4.9 Avaliação da Maturação Sexual	28
	4.11 Avaliação Bioquímica	28
	4.11.1 Obtenção de sangue e lipoproteínas	28
	4.11.2 Definição do Perfil Lipídico e das Apolipoproteínas	29
	4.11.3 Dosagem de CETP	30
	4.11.4 Tamanho da HDL	30
	4.11.5 Atividade da Paraoxonase (PON1)	31
	4.12 Análise Estatística	32
	4.13 Aspectos Éticos	32
5	Resultados	33
	5.1 Caracterização da amostra	33
	5.2 Análise Clínica	35
	5.3 Caracterização Antropométrica	36
	5.4 Avaliação do Estágio Puberal	38
	5.5 Caracterização do Perfil Lipídico	38
	5.6 Tamanho da HDL	40
	5.7 Atividade da Paraoxonase (PON1)	41
	5.8 Atividade da CETP	43
6	Discussão	45
7	Conclusão	52
8	Referências Bibliográficas	53
8	Anexos	64

Siglas Utilizadas

AHA	<i>American Heart Association</i>
ANOVA	Análise de variância
ApoAI	Apolipoproteína AI
ApoAII	Apolipoproteína AII
ApoB	Apolipoproteína B
ApoC-III	Apolipoproteína C-III
ApoE	Apolipoproteína E
BHT	2,6-di-tert-butil-p-hidroxitolueno
BIA	Impedância bioelétrica
CC	Circunferência da cintura
CETP	Proteína transferência de éster de colesterol
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública
CT	Colesterol Total
DAC	Doença arterial coronariana
DM2	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
EDTA	Ácido etileno-diaminotetraacético
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FCF	Faculdade de Ciências Farmacêuticas
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
IMC	Índice de massa corporal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDLox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
NCEP	<i>National Cholesterol Education Program</i>
NEFAs	Ácidos graxos não esterificados
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-americana de Saúde
PAF-AH	Fator ativador de plaquetas acetil-hidrolase
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PCR	Proteína C reativa
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PON1	Paraoxonase 1
R	Resistência
SBC	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes

SBH	Sociedade Brasileira de Hipertensão
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TG	Triglicérides
TMB	Tetrametilbenzina
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
Xc	Reactância

Resumo

A obesidade é um importante problema de Saúde Pública e, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) representa uma epidemia global. Nesse contexto, os adolescentes como foco de mudanças fisiológicas, anatômicas, culturais e sociais representam um grupo com elevado risco de obesidade e suas co-morbidades. O objetivo do presente estudo foi avaliar o possível efeito dos componentes da dieta sobre a atividade antioxidante da proteína paraoxonase (PON1) e o tamanho da HDL em adolescentes. Foram recrutados adolescentes de ambos os sexos, com faixa etária de 10 a 19 anos e de escolas públicas da cidade de São Paulo. Os adolescentes foram distribuídos em três grupos: Eutrófico, Sobrepeso e Obeso, segundo COLE et al. (2000). Após jejum (12-15h) foi coletada uma amostra de sangue e a partir do plasma realizamos as seguintes análises: Perfil lipídico, apo A1, apo B, CETP, Tamanho da HDL (*laser-scattering*), Atividade da Paraoxonase. Foram coletadas informações antropométricas (peso, altura, circunferência da cintura, porcentagem de gordura corporal). A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa SPSS®, com valor de significância de $p < 0,05$. Dos 242 indivíduos elegíveis, 94 (39%) foram meninos e 148 (61%) meninas, com idade média de $13,9 \pm 2,3$ anos. Baseados no IMC, os adolescentes foram distribuídos em três grupos: Eutrófico: $n = 77$ adolescentes (32%); Sobrepeso: $n = 82$ adolescentes (34%) e Obeso: $n = 83$ adolescentes (34%). Esses grupos não apresentaram diferenças significativas quanto ao sexo, escolaridade da mãe, renda, maturação sexual e história clínica atual. Considerando que os grupos apresentaram diferença significativa entre a idade, as análises estatísticas foram ajustadas por essa variável. As diferenças entre CC e porcentagem de gordura corporal confirmaram os resultados obtidos com o IMC. Verificamos também que os elevados valores de IMC favoreceram a hipertigliceridemia ($p = 0,046$), e aos baixos valores de HDL-C ($p = 0,002$). Entretanto, os valores de CETP variaram em função do IMC. Analisando as correlações verificamos que o IMC mostrou correlação positiva com concentração plasmática de colesterol total ($r = 0,347$ e $p = 0,035$) e de LDL-C ($r = 0,353$ e $p = 0,032$), confirmando o impacto negativo da obesidade sobre os fatores do perfil cardiometabólico. Na análise do TAM HDL não houve diferença significativa entre os 3 grupos. A PON apresentou diferença entre os grupos ($p = 0,001$) o que favorece o seu efeito antioxidante e antiinflamatório. Portanto, os resultados obtidos até a presente data demonstram que adolescentes obesos, mesmo ainda considerados clinicamente saudáveis, apresentam diversos parâmetros antropométricos e bioquímicos alterados, o que indica o elevado risco cardiovascular dessa população.

Palavras-Chave: Obesidade. Adolescente. Paraoxonase. Tamanho de HDL.

Abstract

Obesity is a major public health problem and, according to World Health Organization (WHO) is a global epidemic. In this context, adolescents as the focus of physiological changes, anatomical, cultural and social groups to represent a high risk of obesity and its comorbidities. The aim of this study was to evaluate the possible effect of dietary components on the antioxidant activity of the protein paraoxonase (PON1) and HDL size in adolescents. We recruited adolescents of both sexes, aged from 10 to 19 years and public schools in São Paulo. The adolescents were divided into three groups: Well-nourished, overweight and obesity, according to Cole et al. (2000). After fasting (12-15h) was collected and a blood sample from the plasma to the following analysis: lipid profile, apo A1, apo B, CETP, HDL size (laser-scattering), of paraoxonase activity. Data were collected anthropometric (weight, height, waist circumference, percentage body fat). Statistical analysis was performed with the SPSS software program®, with significance level of $p < 0.05$. Of the 242 eligible individuals, 94 (39%) were boys and 148 (61%) girls, mean age 13.9 ± 2.3 years. Based on BMI, adolescents were divided into three groups: Eutrophic: $n = 77$ adolescents (32%) Overweight: $n = 82$ adolescents (34%) and obese: $n = 83$ adolescents (34%). These groups showed no significant differences regarding sex, maternal education, income, sexual maturation, and current medical history. Whereas the groups showed significant difference between age, statistical analysis was adjusted for this variable. The differences between CC and percentage of body fat confirmed the results obtained with BMI. We also found that high BMI values favored hipertiglyceridemia ($p = 0.046$), and low HDL-C ($p = 0.002$). However, the values of CETP varied according to BMI. Analyzing the correlations we found that BMI was correlated positively with plasma total cholesterol ($r = 0.347$ and $p = 0.035$) and LDL-C ($r = 0.353$ and $p = 0.032$), confirming the negative impact of obesity on cardiovascular risk factors. In the analysis of TAM HDL no significant difference among the three groups. The PON was different between groups ($p = 0.001$) which favors the antioxidant and anti-inflammatory effect. Therefore, the results obtained to date show that obese adolescents, even those deemed clinically healthy, have several anthropometric and biochemical changes, which indicates that the high cardiovascular risk population.

Keywords: Obesity. Adolescents. Paraoxonase (PON1). Size HDL size.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos Epidemiológicos das Doenças Cardiovasculares (DCV) e Obesidade

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem a principal causa de morte tanto nos países desenvolvidos como em desenvolvimento (American Heart Association - AHA, 2009). Dados recentes mostram a diminuição da mortalidade por doença aterosclerótica coronária (DAC) nos Estados Unidos. Estima-se que, entre os anos de 1980 e 2000, quase 150.000 mortes foram evitadas (em torno de 44% do total) devido ao controle de fatores de risco (FR), como obesidade, hipercolesterolemia, hipertensão arterial sistólica, tabagismo e sedentarismo (FORD *et al.*, 2007). Pelos dados do estudo AFIRMAR, que avaliou os fatores de risco associados ao infarto do miocárdio no Brasil, verificou-se que a maioria dos FR para DAC são passíveis de prevenção (MCGILL *et al.*, 2008).

Embora as DACs sejam multifatoriais, o crescente aumento na prevalência da obesidade entre adultos, tanto nos países desenvolvidos, quanto naqueles em desenvolvimento tem contribuído de modo significativo no desenvolvimento de novos casos. Estimativas baseadas em inquéritos realizados nas últimas décadas estimam que a obesidade atinja, em 2025, 40% da população nos EUA, 30%, na Inglaterra, e 20%, no Brasil (TADDEI *et al.*, 2011). Apesar dos elevados números observados na população adulta, a curva de crescimento de excesso de peso e obesidade entre crianças e adolescentes vem apresentando maior aceleração (CDC, 2000).

A obesidade é considerada um grave 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, 2010). A obesidade constitui 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 de variáveis culturais, sociais e psicológicas, que determinam a quantidade e a qualidade da alimentação (BIRO *et al.*, 2010).

De acordo com YANNAKOULIA *et al.*, (2009) crianças e adolescentes com excesso de peso têm mais chances de apresentarem obesidade quando adultos jovens. Diante disso, especial atenção deve ser direcionada à primeira infância (5-7 anos) e a adolescência, quando ocorrem mudanças da adiposidade corporal (HU, 2010). A partir

dos seis anos, aproximadamente, uma a cada duas crianças obesas torna-se um adulto obeso, enquanto apenas uma a cada dez crianças não-obesas alcança o mesmo desfecho quando adulta (CONDE E BORGES, 2011).

A incidência e manutenção da obesidade em adultos está associada à prática de estilo de vida inadequado, bem como ao aumento do risco de mortalidade precoce (HU, 2010). Algumas evidências apontam que o período de maior risco para incidência da obesidade é a transição entre a adolescência e as etapas precoces da vida adulta, nos dois sexos e em vários grupos étnicos. Fatores como o hábito de fumar, alto consumo de gorduras e açúcares funcionam como risco ou preditores do desenvolvimento de obesidade em adultos jovens (CONDE E BORGES, 2011).

Portanto, a adolescência é um dos períodos mais vulneráveis para o desenvolvimento da obesidade, tendo em vista as modificações da composição corporal e estilo de vida. Cerca de 50% do peso e 20-25% da estatura de um indivíduo são adquiridos na segunda década da vida e, em razão disso, os requerimentos nutricionais são diferenciados nesse estágio de vida (CONDE E BORGES, 2011).

Atualmente, há aproximadamente 1,6 bilhões de adultos com excesso de peso em todo o mundo, e pelo menos 400 milhões desses, são obesos. Se considerarmos as crianças menores de cinco anos, estima-se que 20 milhões delas apresentam excesso de peso (OMS, 2010). De acordo NGUYEN *et al.*, (2010), a prevalência de excesso de peso em crianças teve uma mudança drástica entre 1980 e 2006, aumentando de 5,5% para 16,3%. Além disso, os dados da *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) mostraram que no período entre 2003 e 2006, 31,9% das crianças e adolescentes americanos de 2 a 19 anos apresentavam excesso de peso e 16,3% obesidade (OGDEN *et al.*, 2008). Segundo *Bogalusa Heart Study*, a obesidade infantil triplicou o perfil cardiometabólico de hipercolesterolemia associada à lipoproteína de baixa densidade (LDL), aumentou o risco de hipertrigliceridemia em 7,1 vezes e de hiperinsulinemia em 12,6 vezes.

No Brasil, dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2008-2009 também mostraram que o excesso de peso foi diagnosticado em aproximadamente um quinto dos adolescentes, ultrapassando em seis vezes a frequência do déficit de peso; e a obesidade correspondeu a cerca de um quarto do total de casos de excesso de peso (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2010).

Embora a prevalência de DAC seja amplamente associada com estágios mais avançados da vida, as mudanças no perfil da sociedade têm refletido diretamente no

registro, cada vez mais precoce, dos eventos clínicos associados à obesidade (HU, 2010). Associado a esses fatores, indivíduos obesos, sobretudo crianças e adolescentes, apresentam baixa auto-estima, afetando o desempenho escolar e os relacionamentos, tendendo a persistir na vida adulta (ARAÚJO *et al.*, 2009; CONDE E BORGES, 2011).

1.2 Metabolismo Lipídico e Obesidade

As dislipidemias consistem em modificações no perfil lipídico na circulação, caracterizando qualquer alteração envolvendo o metabolismo lipídico, sendo classificadas em primárias (origem genética) ou secundárias (doenças, estilos de vida, medicamentos, entre outros). O maior impacto das dislipidemias nas DACs se deve às hiperlipidemias, que causam alterações favorecendo a formação da placa aterosclerótica, formação de trombos, oclusão das artérias, seguido da interrupção do fluxo sanguíneo, com conseqüente morte tecidual (CESARINO *et al.*, 2011).

O excesso de peso e as dislipidemias são considerados fatores determinantes para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (FALUDI *et al.*, 2011). Estudos mostram a associação entre DAC e concentrações elevadas de colesterol total (CT) e colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), e uma associação inversa com o colesterol associado à lipoproteína de alta densidade (HDL-C) (SPOSITO *et al.*, 2007).

As lipoproteínas, compostas por lipídios e proteínas, denominadas apolipoproteínas (APO), são distribuídas em classes, que se diferenciam pelo tamanho, densidade e composição tanto lipídica como apolipoprotéica: Qm (quilomícrons), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e, lipoproteínas de alta densidade (HDL) (ASHEN *et al.*, 2005).

As HDL são constituídas por 50% de apolipoproteínas (AI em maior quantidade, AII, CI, CII, CIII, E e J), 20% de colesterol livre (CL) e de colesterol esterificado (CE), 15% de fosfolípidos e 5% de triglicérides (TG) (**FIGURA 1**).

FIGURA 1 - Composição da lipoproteína de alta densidade (HDL). FL- fosfolípides; apo- apoproteína; CL- colesterol; CE – colesterol esterificado; TG – triglicérides (COUTO *et al.*, 2011).

A partir das apoA-I e apoA-II, sintetizadas no fígado e no intestino, lipídios são incorporados por meio da ação da *ATP binding cassette transporter A1* (ABCA-1) (SANTOS *et al.*, 2011; FRANCONI, *et al.*, 2002; ORAM, 2002), formando uma partícula de HDL discóide contendo, além da apolipoproteína, fosfolípides e uma pequena quantidade de colesterol não-esterificado.

Essas partículas discóides adquirem colesterol não-esterificado de outras lipoproteínas e das membranas celulares por um processo passivo independente de ABCA-1 e também são excelentes substratos para a ação da enzima *lecitina colesterol acil transferase* (LCAT), responsável pela esterificação do colesterol na HDL. Esse processo tende a formar partículas esféricas com núcleo lipídico contendo principalmente ésteres de colesterol (**FIGURA 2**). Desse modo, o maior número de partículas de HDL esféricas encontradas no plasma pode ser explicado em função da relação entre a eficiência de esterificação pela LCAT e o tempo de permanência da HDL na circulação (BERG *et al.*, 2009).

Esse processo de interiorização do colesterol éster na partícula ajuda na manutenção de um gradiente de colesterol livre entre as células e a superfície da HDL, que passa a adquirir mais lipídios da superfície celular via receptores *ATP-binding cassette transporter G1* (ABCG1) e *scavenger receptor BI* (SR-BI) (BERG *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2011).

Figura 2 – Principais vias do transporte reverso do colesterol e metabolismo da HDL. VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade; LDL – lipoproteína de baixa densidade; HDL – lipoproteína de alta densidade; ATP-binding cassette transporter AI (ABCAI) e scavenger receptor BI (SR-BI); CETP – proteína de transferência de éster de colesterol; LCAT - enzima lecitina colesterol acil transferase; PLTP – proteína de transferência de fosfolípidios (COUTO *et al.*, 2011).

A partícula de HDL rica em triglicérides tem mais afinidade pela lipase hepática (LH), o que favorece a posterior remoção do colesterol esterificado do interior dessa lipoproteína pelos receptores SR-BI hepáticos. Esta é a chamada via direta do transporte reverso de colesterol - TRC. Neste processo, formam-se remanescentes de HDL, contendo poucos lipídios, que são captados pelo fígado; enquanto a ApoA-I é metabolizada preferencialmente pelos rins via receptores cubilina/megalina (BERG *et al.*, 2009). Nesse processo, a proteína de transferência de colesterol (CETP) passa a ter um papel essencial na troca de colesterol da HDL por triglicérides presentes nas partículas ricas em apolipoproteína B (Apo-B). As partículas de VLDL e LDL, uma vez enriquecidas com ésteres de colesterol provenientes da HDL, por ação da CETP, tornam-se mais suscetíveis à ação da lipase hepática e à captação por receptores de LDL presentes na superfície do hepatócito (BERG *et al.*, 2009).

Em resposta ao aumento do conteúdo intracelular de colesterol, o hepatócito reduz a expressão de receptores de LDL, aumenta a atividade da acil-colesterol acil-transferase (ACAT), armazenando colesterol na forma esterificada, diminuindo a atividade da enzima hidroximetilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA redutase), o que reduz a síntese intracelular de colesterol e, simultaneamente, aumenta a síntese de ácidos biliares (Barter *et al.*, 2007).

O influxo de colesterol nas células leva à produção de óxidos de colesterol. Estes liberam o complexo LXR/RXR (*liver X receptor/retinoid X receptor*) de seus supressores, ativando a transcrição dos receptores ABCA-1 e ABCG-1, estimulando, portanto, o efluxo de colesterol. Esse mecanismo é especialmente importante nos macrófagos, incluindo os da parede arterial (Barter *et al.*, 2007).

Para que o TRC seja eficiente é necessário que todas as etapas descritas acima estejam íntegras, permitindo o fluxo adequado de colesterol desde sua retirada do macrófago presente na parede arterial até sua incorporação ao parênquima hepático, com posterior excreção via bile (Lu Y, *et al.*, 2008).

1.3- Papel anti-aterogênico da HDL

A HDL tem sido relacionada à prevenção e importante parâmetro no prognóstico clínico das DCV, devido sua relação inversa com o risco cardiovascular. A sua principal atividade anti-aterogênica está relacionada ao TRC de células extra-hepáticas para o fígado. Entretanto, a inibição da expressão das moléculas de adesão, a atividade antioxidante (ApoA-I, A-II e a Paraoxonase (PON1)) e anti-inflamatória (CESARINO *et al.*, 2011; FALUDI *et al.*, 2011) também vêm sendo investigadas.

A HDL também tem sido associada às ações anticoagulante e pró-fibrinolítica por meio da inibição da ativação do fator X, da ativação plaquetária, da secreção de plasminogênio tecidual (TPA) e de inibidor do plasminogênio (PAI) (ASSMANN e GOTTO, 2004; SANTOS *et al.*, 2010). Recentes estudos demonstraram que a HDL também é capaz de proteger as células da parede arterial, sobretudo as células endoteliais, contra a apoptose induzida pela LDLox (SANTOS *et al.*, 2010; FALUDI *et al.*, 2011) (**FIGURA 3**). Contudo, a contribuição exata dos mecanismos na atividade anti-aterogênica da HDL ainda necessitam melhor elucidação.

Figura 1 – Efeitos anti-aterogênicos da HDL

LDL- lipoproteína de baixa densidade; HDL – lipoproteína de alta densidade
Adaptada de Casella, 2007.

Diversas vias anti-aterogênicas têm sido propostas para a HDL. A proteção endotelial ocorre pelas seguintes vias: 1) inibição da infiltração de LDL-oxidadas e conseqüente proteção contra a vasodilatação mediada por acetilcolina e antagonismo da inibição da vasodilatação causada pela lisofosfatidilcolina; 2) inibição da adesão de monócitos ao endotélio, por inibição de moléculas de adesão na superfície endotelial: molécula de adesão vascular (VCAM1), molécula de adesão intracelular (ICAM1), e E selectina. Há, também, redução da interleucina 1 (IL1) e da interleucina 8 (IL8). As HDL2, em particular, têm elevada capacidade de inibir a adesão dos monócitos às células endoteliais; 3) menor produção de endotelina 1 pelas células endoteliais; 4) estimulação da síntese e redução do *clearance* de prostaciclina, melhorando o relaxamento vascular; 5) modulação da produção do peptídeo natriurético C, que promove vasodilatação; 6) ativação de eNOS (síntese do óxido nítrico endotelial), liberando óxido nítrico (NO); 7) estimulação da produção de células musculares lisas, o que pode facilitar a recuperação de células perdidas após a ruptura da capa fibrosa das lesões ateroscleróticas e; 8) prevenção do dano celular e necrose resultante da ativação do sistema de complemento (SANTOS et al., 2010; COUTO *et al.*, 2011).

Em síntese, tem sido postulado que a associação desses mecanismos contribui para a capacidade de captação de lipídios e o tamanho da partícula de HDL e, finalmente para a funcionalidade cardioprotetora da HDL (COUTO *et al.*, 2011).

1.4 – Paraoxonase

Além dos aspectos descritos acima, as partículas de HDL contêm a enzima paraoxonase, capaz de hidrolisar os peróxidos lipídicos, catalisando a ruptura dos fosfolipídeos oxidados na LDL (ASSMANN e GOTTO, 2004), e reduzindo os produtos de oxidação da LDL (lipoperóxidos e lisofosfatidilcolina) (CHAPMAN, 2004; COUTO *et al.*, 2011). Desse modo, a paraoxonase (PON1) associada à HDL apresenta-se como um antioxidante indireto da LDL (KABAROGLU, *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2010), o que confere maior propriedade cardioprotetora à HDL (ASSMANN e GOTTO, 2004).

A paraoxonase é uma esterase cálcio-dependente sintetizada e secretada pelo fígado e associa-se a apolipoproteína A-I (ApoA-I), o que indica interação específica com a HDL-C. A família gênica da PON está localizada no cromossomo humano sete e composta por 3 genes (PON1, PON2, PON3) (MASELLI, 2007). Em humanos, a atividade da paraoxonase sérica aumenta do nascimento até 15-25 meses de vida, quando alcança um nível pré-determinado pelo polimorfismo da região regulatória e fatores ambientais como substâncias químicas, indutores enzimáticos, estados patológicos e fisiológicos, dieta e estilo de vida (STRUNZ *et al.*, 2008). A paraoxonase-1 (PON1) foi a primeira enzima da família a ser descoberta em 1946, no entanto, o interesse pela enzima aumentou somente em 1991 quando Mackness *et al.* a associaram à doença cardiovascular (MACKNESS *et al.*, 1991). Posteriormente, estudos começaram a demonstrar que a atividade da PON1 era menor em pacientes com doença carotídea, doença coronariana e infarto do miocárdio (STRUNZ *et al.*, 2008) sendo, assim, relacionada ao risco de doença cardíaca (REDY *et al.*, 2008). Mais de 160 polimorfismos já foram descritos no gene da PON1 (COUTO *et al.*, 2011), sendo os mais referenciados aqueles localizados nas posições 192 e 55.

As aloenzimas originadas desses polimorfismos terão suas atividades relativas, conforme o substrato empregado, sendo que a glutamina na posição 192 (genótipo QQ) e a metionina na posição 55 conferem uma baixa atividade enzimática, enquanto uma arginina na posição 192 (genótipo RR) e uma leucina na posição 55 conferem uma alta

atividade enzimática quando utilizados os substratos paraoxon e fenitroxon para mensuração da atividade da PON1 (STRUNZ *et al.*, 2008).

REDDY *et al.*, (2008) verificaram que além da associação positiva entre a PON1 e a capacidade antioxidante da HDL, as outras duas isoformas da paraoxonase (PON2 e PON3) têm demonstrado ter importante ação antioxidante ao nível intracelulares e, portanto, ação cardioprotetora no desenvolvimento de aterosclerose em ratos.

Anteriormente, Getz e Reardon, (2004) mostraram que o mecanismo cardioprotetor da paraoxonase não está claro, embora pareça ter relação com propriedades antioxidantes, especialmente na LDL. Segundo Tomas *et al.*, (2004), a atividade enzimática da PON1 é modulada por fatores ambientais como a dieta, atividade física, fármacos, assim como por fatores genéticos.

Apesar de algumas controvérsias, é amplamente aceito que a aterosclerose mantém relação inversa com a HDL e, conseqüentemente, com a PON1. Sabe-se que além dos diversos fatores ambientais e genéticos associados, o processo inflamatório (IL-1, IL-6, e fosfolipídios oxidados) típico do processo aterosclerótico favorece a redução na expressão e atividade da PON1.

A HDL seria fator anti-inflamatório em estado normal (*funcionante*) e pró-inflamatório durante a fase aguda da DAC (Kontush, *et al.*, 2006). Navab *et al.* 2000, demonstraram em estudos com pacientes com DAC documentada por coronariografia, não diabéticos e normolipêmicos, que a enzima PON1 tem atividade significativamente menor que nos indivíduos normais. Estes dados sugerem que pacientes com DAC e nível sérico de CT normal têm HDL *não funcionante* e pró-inflamatória.

Estes dados sugerem que alterações do metabolismo lipídico predis põem às anormalidades na atividade antioxidante das subfrações pequenas e densas de HDL (FERRETTI, *et al.*, 2004), por influenciar a atividade da apoA-I e das enzimas antioxidantes associadas à HDL.

1.5 – Tamanho da HDL

A HDL-C se refere apenas ao conteúdo de colesterol presente no total das partículas de HDL, que constituem um grupo bastante heterogêneo com relação a tamanho,

composição e funcionalidade. A esse conjunto de características, atualmente, se avalia o papel multifuncional da HDL (REDY *et al.*, 2008; TSOMPANIDI *et al.*, 2010).

A lipoproteína de alta densidade é subdividida em três classes: HDL1, HDL2 e HDL3. O diâmetro do núcleo da HDL2 é, aproximadamente, 50% maior do que a HDL3 (60 e 40 Å, respectivamente). Assim, a HDL2 contém 3 a 4 vezes mais moléculas de éster de colesterol e triacilgliceróis. A área superficial da HDL2 é duas vezes maior do que a HDL3 e a diferença em quantidade de proteína é de 50%. Quando o peso molecular da apoproteína é levado em consideração, a diferença na quantidade de proteína pode ser contabilizada por uma molécula de apo AI e apo C. Se a capacidade de carrear lipídios pelas proteínas é equivalente à eficiência de uma lipoproteína transportar lipídios, a HDL2 é duas vezes mais eficiente do que a HDL3 no transporte de colesterol. A HDL1 consiste em partículas ricas em apo E, dessa forma, é maior do que a HDL2. A HDL1 foi identificada no plasma humano e está presente em ratos com baixos níveis de LDL. O diâmetro da HDL1 é 130 a 140 Å, e o volume do núcleo é quatro vezes maior do que a HDL2 (TSOMPANIDI *et al.*, 2010).

Quando fracionada por gradiente de densidade por ultracentrifugação, a HDL pode ser separada em cinco subfrações: HDL2b, HDL2a (com maior tamanho e menor densidade), HDL3a, HDL3b, HDL3c (com menor tamanho e maior densidade) (CHAPMAN, *et al.*, 1981). Outros métodos de separação, como por eletroforese bidimensional permitem a identificação de mais de dez sub-frações da HDL, onde predominam a α -HDL, pré- α -HDL e pré- β -HDL (Li, *et al.*, 1994). A HDL também pode ser separada de acordo com sua composição em apolipoproteínas (**FIGURA 4**).

As partículas pré- β -HDL agem como aceptores de CT excedente das células, através de transporte enzimático, sendo o CT esterificado pela lecitina colesterol acil-transferase (LCAT), transformando-se em HDL3. A aquisição adicional de CT e TG resulta em aumento da partícula de HDL e redução de sua densidade, com conseqüente formação da HDL2 (NOFER *et al.*, 2002). Portanto, diversos estudos indicam que o tamanho da partícula da HDL também contribui para a capacidade cardioprotetora dessa partícula (NOFER *et al.*, 2002; REDY *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2011).

Figura 3 - Caracterização das partículas de HDL, segundo seu conteúdo em apolipoproteína, densidade e tamanho (CAMPOS, 2009).
ApoA-I: apolipoproteína A-I; ApoA-II: apolipoproteína A-I:A-II.

No estudo de Kontush *et al.*, (2003) demonstrou-se que a atividade antioxidante das HDL aumenta com incremento da sua densidade ($HDL_{2b} < HDL_{2a} < HDL_{3a} < HDL_{3b} < HDL_{3c}$). A atividade protetora das partículas pequenas e densas da HDL deve-se a capacidade de inativar lipídios oxidados por meio da ação antioxidante (paraoxonase – PON, ApoAI) e enzimática (fosfolipase A_2 associada a lipoproteína de baixa densidade – Lp-PLA $_2$ e lecitina colesterol acil transferase - LCAT) (RIBAS *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2011) dessa sub-grupo de partículas. Do ponto de vista antioxidante, as HDLs também são heterogêneas possivelmente devido a distribuição não uniforme das apolipoproteínas e enzimas que possuem propriedades antioxidantes (KONTUSH *et al.*, 2003).

Pacientes com DAC possuem predominantemente subfrações menos densas de HDL circulantes (TALL *et al.*, 2000), reforçando assim a hipótese de que subfrações menores e mais densas de HDL podem estar associadas com maior proteção de DAC. Portanto, não é somente o aumento ou a redução da concentração de colesterol na HDL que determina sua ação cardioprotetora, mas também a distribuição das suas subclasses.

Modificações quantitativas e qualitativas das HDL podem influenciar no efluxo de CT dos tecidos periféricos para o fígado. Estas modificações podem levar à maior formação de lipoproteína rica em CT ou acúmulo de fosfolipídios oxidados e CT na parede vascular, favorecendo assim a lesão endotelial (Kontush *et al.*, 2006).

Embora as manifestações clínicas da aterosclerose, em geral, iniciem-se a partir da meia-idade, sabe-se que o processo aterosclerótico tem início na infância (THOMPSON *et al.*, 2007). O ritmo de progressão está relacionado com a presença dos fatores de risco clássicos identificados no adulto, tais como obesidade, tabagismo, hipertensão, diabetes mellitus, história familiar, idade e nível de atividade física (MCGILL *et al.*, 2000).

Estudos epidemiológicos têm mostrado uma maior incidência de doenças cardiovasculares em populações com altas concentrações de colesterol total e de LDL-C e baixa concentração de HDL-C, independente da idade (CAMPOS *et al.*, 2009). Segundo SEVERINA *et al.*, (2004) crianças e adolescentes com diagnóstico de obesidade apresentam valores alterados de HDL em 68,8% dos participantes e elevada de hipertrigliceridemia (35%).

Embora sejam inúmeros os estudos sobre metabolismo lipídico e risco cardiovascular em adultos, a literatura ainda é modesta quando se avalia os parâmetros cardiometabólicos em crianças e adolescentes. A relevância dos estudos com crianças e adolescentes adquire maior significância no contexto da obesidade, onde as doenças arteriais coronarianas apresentam correlações positivas entre os marcadores de peroxidação lipídica, colesterol total e triacilgliceróis, e correlações negativas com a concentração e o tamanho de HDL (SEVERINA *et al.*, 2004; CAMPOS *et al.*, 2009).

Portanto, avaliar parâmetros associados ao metabolismo lipídico de adolescentes obesos, sobretudo, relacionados à PON1 e ao tamanho da HDL, pode ampliar os atuais conhecimentos sobre a funcionalidade da HDL nesta população.

2. JUSTIFICATIVA

A obesidade na infância e adolescência tende a persistir na fase adulta se não for prevenida ou corretamente controlada. Esse fato pode favorecer o aumento de morbimortalidades e diminuir a expectativa de vida. Estudos experimentais, clínicos, epidemiológicos e de intervenção evidenciam a relação inversa entre a concentração sanguínea da HDL-C e o desenvolvimento de DAC.

As HDL constituem uma classe de lipoproteínas heterogêneas, que possuem um metabolismo complexo e, ainda não totalmente compreendido. São consideradas antiaterogênicas por promover o transporte reverso do colesterol e pelas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticoagulantes, pró-fibrinolíticas e de proteção endotelial, amplamente documentadas em estudos *in vitro*, modelos experimentais com animais e estudos clínicos.

Apesar do crescente número de informações disponíveis sobre o metabolismo lipídico, ainda são limitados os estudos sobre o metabolismo da HDL em adolescentes, destacando-se a participação da PON1 e o tamanho da dessa partícula.

Portanto, avaliar esses parâmetros entre adolescentes com diferentes perfis nutricionais ainda constitui um tema a ser investigado.

3. Objetivo

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a influência da obesidade em adolescentes sobre a atividade da paraoxonase (PON1) e o tamanho da lipoproteína de alta densidade (HDL).

3.2 Objetivos Específicos:

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

- Avaliar o estado nutricional dos adolescentes através do índice de massa corporal (IMC), circunferência da cintura e composição corporal;
- Avaliar colesterol e triacilgliceróis no plasma e colesterol nas lipoproteínas (LDL e HDL);
- Detectar a atividade da Proteína de Transferência de Ésteres de Colesterol (CETP) no plasma;
- Determinar o tamanho da HDL;
- Determinar a apoAI;
- Detectar a atividade da paraoxonase (PON1).

4. MÉTODOS

4.1 Casuística

A população do estudo foi composta por adolescentes de ambos os sexos, com idade entre 10 – 19 anos (OMS, 1995), que foram distribuídos em três grupos: **Controle** - composto por adolescentes Eutróficos; **Sobrepeso** - formado por adolescentes com Risco de Obesidade e **Obeso** - formado por adolescentes com Obesidade, segundo COLE et al. (2000).

Os participantes elegíveis deste estudo foram selecionados de escolas públicas localizadas na Zona Oeste da cidade de São Paulo - SP. A seleção das escolas e dos adolescentes foi através de sorteio aleatório.

A partir das escolas públicas de ensino fundamental e médio localizadas na Zona Oeste da cidade de São Paulo (n=92) foram sorteadas seis escolas. Após essa etapa, realizou-se reunião com o coordenador pedagógico das escolas, onde o projeto foi apresentado e discutido, ficando essas livres para decidir participar ou não da pesquisa. A região alvo (Zona Oeste) foi selecionada devido aos fatores logísticos associados, tais como localização próxima à Faculdade de Saúde Pública (FSP/USP) e facilidade no transporte de amostras.

Após a definição das escolas, foram coletadas medidas de peso e altura de todos os adolescentes que aceitarem participar dessa triagem inicial. Com estas informações, foram sorteados adolescentes Eutróficos, Sobrepeso e Obesos.

Todos os participantes e os responsáveis pelos adolescentes passaram pelo processo de esclarecimento, e após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, iniciamos à coleta de dados (**Anexo 1**). Todos os procedimentos de obtenção de amostras, análises e divulgação dos resultados seguiram as normas do Conselho Nacional de Saúde, no que se refere à ética em pesquisa com seres humanos (BRASIL, 1996).

4.2 Cálculo Amostral

O tamanho da amostra foi determinado para um estudo aleatorizado, utilizando 3 fatores: faixa etária (10 níveis), sexo (2 níveis: masculino e feminino) e grupo (3 níveis: eutrófico, sobrepeso e obeso). Para detectar uma diferença mínima entre os valores médios dos extratos em torno de 3 unidades e para determinar poder mínimo de 80% e nível de significância $p < 0,05$, o tamanho da amostra encontrado foi de 6 indivíduos

para cada extrato (combinação de níveis e fatores), dando um total de 144 indivíduos, isto é, no mínimo 48 adolescentes por grupo. A este valor acrescentou-se 20% para possíveis perdas. Portanto, cada grupo deveria ser formado por 58 adolescentes, no mínimo.

O cálculo do tamanho da amostra foi determinado por meio do programa *Power Analysis Sample Size* (NCSS Statistical Software, 2005).

4.3 Delineamento do Estudo

Este estudo foi do tipo caso-controle e incluiu as seguintes etapas de coleta de dados. As etapas são descritas na **FIGURA 4**.

Figura 2: Fluxograma do estudo.

4.4 - Análise de Riscos e Benefícios

A pesquisa teve caráter de diagnóstico e não de intervenção. Portanto, o risco foi considerado mínimo. Os benefícios resultantes da realização deste estudo se basearam na identificação de hábitos alimentares e parâmetros antropométricos associados ao perfil cardiometabólico de adolescentes com sobrepesos ou obesos. Neste contexto, os benefícios para a população incluída no estudo ainda foram experimentais, mas visualizaram a identificação de perfis nutricionais mais saudáveis para a população em geral. Todos os resultados e orientações específicas (sugestão para procurar um profissional médico ou nutricionista), quando esses indicaram risco à saúde do indivíduo, foram encaminhados aos pais ou responsáveis pelos adolescentes.

4.5 Critérios de Inclusão

Foram incluídos no estudo adolescentes de ambos os sexos, que apresentaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido devidamente preenchido e assinado pelos pais ou responsáveis, e com as seguintes características:

- Idade entre 10 – 19 anos;
- Matriculados em uma das escolas onde foi realizada a coleta de dados;
- Não fumar;
- Sem uso freqüente de álcool (utilizamos os valores estabelecidos para adultos: consumo $\leq 30,0$ mL de etanol/dia para homens e $\leq 15,0$ mL de etanol/dia para mulheres, segundo IV Diretrizes Brasileira de Hipertensão da Sociedade Brasileira de Hipertensão (SBH, 2004);
- Sem uso de medicamentos moduladores do metabolismo lipídico, antioxidantes e hormônios há pelos menos 2 meses.

4.6 Critérios de Exclusão

Adolescentes que preencheram algum dos critérios abaixo não participaram do estudo:

- Adolescentes desnutridos;
- Adolescentes grávidas ou lactantes;
- Presença de doenças crônicas, tais como, neuropatias, endocrinopatias, nefropatias, doenças pulmonares, cardiopatias, doenças reumatológicas, imunodeficiência congênita ou adquirida, além de síndrome de Cushing e hipotireoidismo auto relatadas;
- Adolescentes que participavam de outros protocolos de pesquisa.

4.7 Avaliação Sócio-Econômica e Clínica

O perfil sócio-econômico dos adolescentes foi avaliado através de um questionário previamente estruturado, que abordou os itens gênero, idade, raça, renda familiar e número de indivíduos que moravam na residência. Para a avaliação social, levamos em consideração o nível de escolaridade do adolescente e da família (pai e mãe). A avaliação clínica foi constituída pelas informações sobre história clínica atual, antecedentes familiares de doenças crônicas, uso regular de medicamentos e/ou

vitaminas e prática de atividade física referenciadas pelo adolescente ou responsável (Anexo 2).

4.8 Avaliação Antropométrica

A avaliação dos parâmetros antropométricos foi realizada por meio da coleta de peso (Kg), altura (m), circunferência da cintura (cm), circunferência braquial (cm) e dados de composição corporal (porcentuais de massa gorda e massa magra).

O peso foi determinado com os adolescentes utilizando o mínimo de roupas e descalços, utilizando a balança digital Control II[®] (Plenna, São Paulo, Brasil) com limite de capacidade de 150,0 Kg e precisão de 100,0 g. A medida de altura foi determinada através do estadiômetro portátil 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 e com a cabeça sob o plano horizontal de Frankfurt (LHOMAN et al., 1988). Esses dados foram utilizados para cálculo do índice de massa corporal (IMC), definido como peso em quilos dividido pela estatura em metros quadrados (Kg/m^2). O valor do IMC foi classificado de acordo com COLE et al. (2000), considerando sexo e idade, sendo esse resultado utilizado na determinação do estado nutricional.

Utilizando uma fita inelástica, flexível e com precisão 1,0 mm (TBW, São Paulo, Brasil), mensuramos a medida de circunferência da cintura, adotando-se como referencial anatômico o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. O indivíduo foi orientado a permanecer com o abdômen relaxado, ficar em pé, manter os braços paralelos ao corpo e pés unidos. Os valores de referência para circunferência da cintura foram classificados, segundo FERNÁNDEZ et al. (2004) para indivíduos até 18 anos, e para aqueles com idade superior consideramos os valores propostos pela *International Diabetes Federation* – IDF (ZIMMET, 2005).

Para a realização da impedância bioelétrica (BIA), utilizamos o aparelho tetrapolar Biodynamics[®], modelo 450 (TBW, São Paulo, Brasil), através da aplicação de uma corrente de 800 μA e frequência de 50 KHz. As medidas de impedância bioelétrica foram tomadas do lado direito do indivíduo, que foi orientado a manter-se deitado em posição supina, com os braços em ângulo de 30° em relação ao seu corpo e as pernas sem contato entre si. Calçados e meias foram retirados e durante o teste o

indivíduo permaneceu imóvel. O equipamento apresentou os valores brutos de resistência (R), reactância (Xc) e ângulo de fase ($^{\circ}$) de cada indivíduo.

O cálculo do percentual de gordura corporal (%) e do percentual de massa magra (%) foi determinado através do programa Biodynamics[®] (TBW, São Paulo, Brasil), onde consideramos sexo, idade, peso, altura, nível de atividade física, resistência e reactância. Os valores de referência para porcentagem de gordura corporal foram de acordo com os parâmetros estabelecidos por SLAUGHTER (1993).

4.9 Avaliação da Maturação Sexual

A maturação sexual foi analisada individualmente, por meio da auto-avaliação, segundo os critérios de estadiamento puberal propostos por MARSHALL e TANNER (1970) e MARSHALL (1969). Aos meninos foram fornecidas figuras com diferentes graus de desenvolvimento da pilosidade pubiana e do desenvolvimento genital. Para as meninas foram apresentadas figuras que mostravam diferentes graus de desenvolvimento mamário, além de figuras com diferentes graus de pilosidade pubiana (**Anexo 3**). Os adolescentes realizaram uma auto-classificação, analisando as figuras, e anotou em um formulário o código correspondente ao seu estágio puberal, as meninas também anotaram a idade da menarca.

A classificação da maturação sexual como pré-púbere e púbere para cada sexo foi realizada, segundo a OMS (**Quadro 1**).

SEXO	ESTADIO DE TANNER	CLASSIFICAÇÃO
Masculino	Genitália no estadio 1 ou 2	Pré-púbere
	Genitália a partir estadio 3	Púbere
Feminino	Mamas no estadio 1	Pré-púbere
	Mamas a partir estadio 2	Púbere

Fonte: Adaptada de OMS, (1995).

4.11- Avaliação Bioquímica

4.11.1 Obtenção de sangue e lipoproteínas

Após um jejum de 12-15 horas foi coletada uma amostra de sangue (20,0 mL). A coleta foi realizada por profissional capacitado (técnico ou auxiliar de enfermagem,

contratado exclusivamente para esse fim) e em local reservado e equipado de modo a conferir segurança biológica ao indivíduo doador e coletor. Todo material necessário para a colheita de sangue foi utilizado pela primeira vez para este fim e o descarte foi efetuado dentro dos padrões de segurança laboratorial. O sangue foi coletado em tubos *vacutainer* contendo ácido etileno-diaminotetraacético-EDTA (1,0 mg/mL) (BD, Brasil), utilizado como anticoagulante e antioxidante, mantido em gelo e protegido da luz até a obtenção do plasma. Ao plasma (3000 rpm, 10 min, a 4°C) acrescentou-se 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-tert-butil-p-hidroxitolueno-BHT (100,0 µM). Todas as amostras foram mantidas em freezer a -80°C até a realização das análises.

4.11.2 Definição do Perfil Lipídico e das Apolipoproteínas

Através da aplicação manual de reagentes enzimáticos, foram analisadas as concentrações de colesterol e triacilgliceróis no plasma e colesterol na HDL. Para a determinação das concentrações de colesterol total e associado à HDL foram utilizados os Kits Colesterol Liquiform® (Labtest, Minas Gerais, Brasil) e Colesterol HDL® (Labtest, Minas Gerais, Brasil), respectivamente. Para a determinação de triacilgliceróis plasmáticos utilizamos o Kit Triacilgliceróis Liquiform® (Labtest, Minas Gerais, Brasil). O conteúdo de colesterol associado à LDL foi determinado por meio da fórmula de FRIEDEWALD (1972), onde: $LDL-C = CT - HDL-C - TG/5$. Essa fórmula só foi aplicada para os indivíduos com $TG < 400$ mg/dL.

Além da análise da concentração de colesterol no plasma e nas lipoproteínas e triacilgliceróis no plasma, também verificamos as relações entre o conteúdo de colesterol das lipoproteínas. O índice de Castelli I foi determinado pela razão entre o colesterol total e o HDL-C e o índice de Castelli II pela razão entre LDL-C e HDL-C (CASTELLI et al., 1983).

Com a finalidade de melhorarmos a avaliação das lipoproteínas aterogênicas circulantes, calculamos o colesterol não associado à HDL. Esta variável foi baseada na subtração do HDL-C do colesterol total. Avaliamos ainda a relação dos TG com o HDL-C.

As apolipoproteínas A-I e B foram detectadas no soro por meio de ensaio turbidimétrico. A partir do sangue coletado em tubo seco, o soro foi obtido após

completa retração do coágulo (após 30 min) e centrifugação (3.000 rpm, 10 min, 4°C). A amostra incubada com o anticorpo específico presente no reagente formou um complexo insolúvel que foi medido no sistema automatizado Cobas Mira Plus CC® (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha), à 340nm. Para esta análise utilizamos os kits comerciais: Apolipoproteína A-I (LP2116), Apolipoproteína B (LP2117), Controle Lipid level 2 (LE2669) e Calibrador de Apolipoproteína (LP3023) (RANDOX®, Co, Antrim, Reino Unido). Os resultados foram expressos em mg/dl.

As concentrações de HDL-C e LDL-C foram expressas sob a forma bruta (mg/dl) e ajustadas pelo conteúdo de ApoA-I e ApoB, respectivamente.

4.11.3 Atividade da CETP

Para a determinação da atividade da Proteína Transportadora de Éster de Colesterol (CETP) utilizamos o kit comercial *CETP Activity Assay*® (BioVision Research Products, CA, EUA). A metodologia empregada foi baseada na técnica de fluorescência (E_{xc} 465 nm e E_m 535 nm), onde uma molécula doadora contendo lipídeo fluorescente foi transferida para outra molécula na presença de CETP. Nesse sentido, o aumento da fluorescência manteve relação direta com a atividade da CETP presente no plasma dos adolescentes. As análises foram realizadas em duplicata, sendo os resultados expressos em pmol/μl/hora.

4.11.4 - Tamanho da HDL

O tamanho da partícula de HDL foi determinado através do método *Laser-Light-Scattering* padronizado por Lima e Maranhão (2004). Para determinação do tamanho da partícula de HDL foram adicionadas 500,0 μL de Polietileno Glicol 8000 (PEG) em 500,0 μL de plasma, seguida de agitação em vortex por 30 segundos. A HDL foi isolada por centrifugação (1800g, 10 minutos, a 25°C). Retiramos 500,0 μL do sobrenadante e adicionamos em 1,5 mL de NaCl (10,0 mmol/L), que posteriormente foi filtrado (0,22 μm). O diâmetro da partícula de HDL foi determinado pelo uso do aparelho ZetaPALS Zeta Potencial Analyzer® (Brookhaven Instruments Corporation, NY, USA). Esse aparelho utiliza um laser *helium-neon* de 29mW à 658nm para excitar as amostras. O experimento foi realizado à 25°C e o resultado de cada amostra foi expresso pela média e desvio padrão do diâmetro da partícula obtido a partir de 5 leituras. Todas as análises

foram realizadas em até 24h após a coleta de sangue, tendo as mesmas sido mantidas em geladeira (8°C) até o momento das análises. Segundo estudo de Lima e Maranhão (2004), não foi observado mudança significativa no diâmetro da partícula de HDL em amostras de plasma com EDTA acondicionadas por 7 dias, à -70°C.

4.11.5 - Atividade da Paroxonase (PON1)

Durante o mesmo processo de obtenção de sangue escrito acima, alíquotas de sangue foram coletadas em tubo seco, sendo o soro obtido por centrifugação (3.000 rpm, 10 min, 4°C) após a completa retração do coágulo (≈30 min). A atividade da PON1 foi determinada pela adição de 500 µl de tampão Tris-HCl 0.1M e pH 8,05, contendo 2 mmol/L de CaCl₂ e 1,1 mmol/L de paraoxon (Sigma Chemical Co.) em 25 µL de soro. Em seguida, se distribuiu 200 µL da solução em placas de fundo plano contendo 96 poços. A leitura foi feita em duplicata utilizando o leitor de microplacas (Microplate Reader, Benchmark, Bio-RAD) com comprimento de onda de 405 nm, a 37°C. Para o cálculo da atividade, foram feitas 6 leituras em intervalos de um minuto cada. Os resultados foram expressos em nmol min⁻¹. mL⁻¹ (MACKNESS et al., 1991). O resultado foi obtido multiplicando-se a média da variação das absorbâncias pelo fator descrito abaixo:

Cálculo do Fator:

$$FATOR = \frac{VTR(mL)}{\epsilon_{405} \times VA(mL) \times E(cm)}$$

onde,

VTR (volume total da reação) = 525 µL (500 µL solução + 25 µL soro)

ϵ_{405} = 18050 L M⁻¹ cm⁻¹ (SENTI et al. , 2003; AGACHAN et al., 2004)

VA (volume da amostra) = 25 µL

E (espessura do poço da placa) = 1 cm

Substituindo os valores e ajustando para as unidades internacionais temos:

$$Fator = 1163,43 \text{ nmol mL}^{-1}$$

Cálculo da Atividade:

Atividade da Paraoxonase = Fator x $\Delta\text{abs}/\text{min} = 1163,43 \times \Delta\text{abs nmol min}^{-1} \text{ mL}^{-1}$, onde,

Δabs = é média da variação das absorbâncias medidas a cada 1 minuto.

4.12 Análise Estatística

Todas as análises foram conduzidas em duplicata e são apresentadas sob a forma de tabelas e gráficos.

Para as variáveis qualitativas, utilizamos teste χ^2 e apresentamos no formato de valor absoluto seguido da sua respectiva porcentagem.

Tanto para a forma de apresentação dos dados quantitativos, assim como para a determinação dos testes que foram utilizados, consideramos o tipo de distribuição dessas variáveis (teste *Kolmogorov-Smirnov*; $p > 0,05$). As variáveis com distribuição normal foram apresentadas sob a forma de média e intervalo de confiança e, realizados testes como ANOVA e correlação de *Pearson*. Para as demais variáveis, a apresentação se deu por mediana (p50) e intervalos interquartis (p25 e p75) e, utilização de testes não paramétricos como *Kruskal-Wallis* e correlação de *Spearman*.

Sexo, idade, assim como outras variáveis que sabidamente influenciam alguns desfechos biológicos foram testadas em modelos ajustados, sendo os grupos posteriormente comparados por meio do teste Bonferroni.

Todos os testes estatísticos foram realizados com o auxílio do programa *Statistical Package for the Social Sciences*® (SPSS), versão 15.0 (SPSS Incorporation, 2006).

O valor de significância considerado foi de $p < 0,05$.

4.13 - ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi submetido, analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública (COEP/FSP), sob o registro nº 1886 (**Anexo 6**).

Esse estudo foi submetido e aprovado pelos diretores das seguintes escolas públicas localizadas na cidade de São Paulo: Escola Estadual Caetano de Campos, Escola Estadual Prof. Antonio Alves da Cruz, Escola Estadual Prof. Alipio de Barros e Escola Municipal de Ensino Fundamental Profa. Ileusa Caetano da Silva.

5. Resultados

5.1 – Caracterização da amostra

A partir da triagem inicial, 2.746 adolescentes foram considerados elegíveis para o presente estudo (**Figura 3**). Dos 1425 adolescentes que haviam aceitado a participarem do estudo, esses desistiram no momento que souberam da coleta de sangue. Dos 242 indivíduos elegíveis, 94 (38,8%) eram meninos e 148 (61,2%) meninas, com idade média de $13,9 \pm 2,3$ anos. Os adolescentes foram distribuídos em grupos: Controle (n= 77), Sobrepeso (n= 82) e Obeso (n= 83).

Figura 3– Fluxograma de recrutamento e seleção de adolescentes.

Na **Tabela 1** descrevemos as características sócio-econômicas dos adolescentes, distribuídas por IMC.

A maioria dos adolescentes foi da raça branca (44,6%), exceto no grupo Sobrepeso, que apresentou principalmente indivíduos da raça parda (39%). Com relação à escolaridade dos pais, houve predominância do ensino fundamental incompleto para os pais (23,1%) e do ensino médio completo para as mães (26,4%). A faixa de renda mensal variou de 1 a 5 salários mínimos (SM) para a maioria dos adolescentes incluídos nos três grupos estudados.

Tabela 1: Caracterização sócio-econômica e demográfica dos adolescentes, segundo o IMC.

Variáveis	Eutrófico		Sobrepeso		Obeso		p
	n	%	n	%	n	%	
Idade							
Sexo							0,321
Masculino	26	33,8	37	45,1	31	37,3	
Feminino	51	66,2	45	54,9	52	62,7	
Etnia							0,018
Branco	40	51,9	28	34,1	40	48,2	
Negro	11	14,3	21	25,6	20	24,1	
Pardo	25	32,5	32	39,0	2	25,3	
Amarelo	0	0	0	0	0	0	
Indígena	0	0	0	0	0	0	
Escolaridade do pai							0,213
Analfabeta	3	3,9	4	4,9	2	2,4	
Fundamental incompleto	17	22,1	26	31,7	13	15,7	
Fundamental completo	13	16,9	7	8,5	13	15,7	
Médio incompleto	8	10,4	13	15,9	5	6,0	
Médio completo	16	20,8	9	11	20	24,1	
Superior incompleto	0	0	1	1,2	2	2,4	
Superior completo	7	9,1	8	9,8	8	9,6	
Escolaridade da mãe							0,07
Analfabeta	2	2,6	3	3,7	1	1,2	
Fundamental incompleto	19	24,7	25	30,5	15	18,1	
Fundamental completo	10	13,0	15	18,3	8	9,6	
Médio incompleto	12	15,6	9	11,0	7	8,4	
Médio completo	22	28,6	21	25,6	27	32,5	
Superior incompleto	2	2,6	4	4,9	11	13,3	
Superior completo	7	9,1	4	4,9	13	15,7	
Renda familiar							0,08
<1 SM	1	1,3	-	-	5	6,0	

1 - 5 SM	44	57,1	38	46,3	34	41,0
6 - 10 SM	9	11,7	8	9,8	11	13,3
>10 SM	1	1,3	-	-	-	-
Não sabe	22	28,6	36	43,9	33	39,8

n= 242 indivíduos. Grupos: Eutrófico (n=77), Sobrepeso (n=82) e Obeso (n=83). SM: salário mínimo. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste χ^2 , com nível de significância de $p < 0,05$.

5.2 – Análise Clínica

A **Tabela 2** descreve as variáveis de avaliação clínica dos adolescentes, distribuídos em função da classificação do IMC. De acordo com essa tabela, mais de 10% relataram ter algum problema de saúde por ocasião do estudo. Apesar desse perfil, não verificamos diferença significativa entre os três grupos ($p = 0,670$). As principais afecções descritas foram: doenças relacionadas ao sistema respiratório, arritmia cardíaca, gastrite, hipertensão arterial sistêmica, talassemia, toxoplasmose, síndrome de poland, linfedema e enxaqueca.

Com relação ao histórico familiar de doenças crônicas foi observado que o grupo Obeso possui maior prevalência de hipertensão (43,3%) e obesidade (31,3%) que os demais grupos. Os grupos não apresentaram diferença significativa para as variáveis diabetes e AVC.

A avaliação da prática de atividade física mostrou que em todos os grupos há indivíduos com prática regular de atividade física, porém o grupo Obeso apresentou menor prevalência na regularidade (51,8%), quando comparado com os grupos Sobrepeso (70,7%) e Eutrófico (66,2%) ($p = 0,03$).

Tabela 2. Perfil clínico, antecedentes familiares de doenças e prática de atividade física dos adolescentes, segundo o IMC.

Variáveis	Eutrófico	Sobrepeso	Obeso	p
	n (%)	n (%)	n (%)	
Portador de doença				
Sim	14 (18,2)	14 (17,1)	11 (13,3)	0,67
Não	63 (81,8)	68 (82,9)	72 (86,7)	
Uso de medicamento ou vitamina				
Sim	5 (6,5)	2 (2,4)	6 (7,2)	0,34
Não	72 (93,5)	80 (97,6)	77 (92,8)	
Antecedente familiar				

Diabetes	9 (11,6)	13 (16,8)	16 (19,2)	0,41
Hipertensão	15 (19,4)	29 (35,3)*	36 (43,3)*,**	0,01
Obesidade	13 (16,8)	11 (13,4)	26 (31,3)*	0,01
AVC	5 (6,4)	7 (8,53)	11 (13,4)	0,32
Prática de atividade física				
Sim	51 (66,2)	58 (70,7)	43 (51,8)*,**	0,03
Não	26 (33,8)	24 (29,2)	40 (48,2)	

n=242. Grupos: Eutrófico (n=77), Sobrepeso (n=82) e Obeso (n=83). HAS: hipertensão arterial sistêmica, DAC: doença arterial coronariana, AVC: acidente vascular cerebral. A análise comparativa entre os grupos foi realizada pelo *Teste -X²*, com índice de significância de $p < 0,05$. * vs grupo Eutrófico; ** vs grupo Sobrepeso.

5.3 - Caracterização Antropométrica

Em relação à circunferência da cintura e porcentagem de gordura observamos que a adiposidade variou significativamente e proporcionalmente ao índice de massa corporal, confirmando a classificação feita em função do IMC (**Tabela 3**).

Tabela 3: Valores de circunferência da cintura e composição corporal, segundo o IMC.

Variáveis	Eutrófico	Sobrepeso	Obeso
CC (cm)			
Masculino	70,8 (68,5 – 73,2)	82,9 (80,8 – 85,0)*	102,2 (97,2 – 107,2)*,**
Feminino	68,2 (66,6 – 69,8)	78,9 (77,6 – 80,3)*	93,8 (90,6 – 96,9)*,**
Gordura Corporal (%)			
Masculino	13,5 (10,3 – 16,8)	21,5 (19,3 – 23,7)*	29,6 (27,3 – 31,9)*,**
Feminino	22,4 (20,8 – 224,1)	27,1 (25,4 – 28,7)*	33,8 (31,9 – 35,8)*,**

n= 242 indivíduos. Grupos: Eutrófico (n=77), Sobrepeso (n=82) e Obeso (n=83). Os dados são apresentados sob a forma de médias (intervalo de confiança) ou medianas (intervalo interquartis), conforme distribuição das variáveis. CC: circunferência da cintura. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste Bonferroni, com nível de significância de $p < 0,05$. * vs grupo Eutrófico, ** vs grupo Sobrepeso.

As correlações apresentadas no **Gráfico 2** reforçam o impacto negativo do ganho de peso e da obesidade sobre os parâmetros lipídicos, onde a circunferência da cintura se correlacionou com as concentrações de TG ($r=0,196$ e $p=0,002$) e HDL-C ($r=-0,131$ e $p=0,041$). Observamos ainda que a CC se correlacionou significativamente com a porcentagem de massa gorda ($r=0,563$ e $p=0,001$), de massa magra ($r=-0,287$ e $p=0,001$) e com IMC ($r=0,772$ e $p=0,001$). No **Gráfico 3**, se observa correlações significativas entre o IMC e a MG ($r= 0,694$ e $p=0,001$).

Gráfico 2- Correlações entre a circunferência da cintura com IMC, MG e com o perfil lipídico.

Gráfico 3 – Correlação entre o IMC com parâmetros de composição corporal e perfil lipídico.

5.4 - Avaliação do Estágio Puberal

De acordo com a classificação de maturação sexual, a maioria dos adolescentes incluídos no estudo se encontrou na fase púber. A comparação da maturação sexual entre os grupos indicou que esses eram semelhantes ($p= 0,710$). Em relação ao sexo e a maturação sexual, também não encontramos diferença significativa entre os grupos (**Tabela 3**).

Tabela 3: Distribuição da maturação sexual dos adolescentes, segundo o IMC.

Variáveis	Eutrófico		Sobrepeso		Obeso		p
	n	%	n	%	n	%	
Estágio Puberal							0,71
Pré-púber							0,47
Masculino	3	11,5	6	16,2	6	19,4	
Feminino	1	2,0	1	2,2	-	-	
Púber							0,38
Masculino	23	88,5	31	83,8	25	80,6	
Feminino	50	98,0	44	97,8	52	100	

n= 242 indivíduos. Grupos: Eutrófico (n=77), Sobrepeso (n=82) e Obeso (n=83). A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste Bonferroni, com nível de significância de $p < 0,05$.

5.5- Caracterização do Perfil Lipídico

Os resultados do perfil lipídico são apresentados no **Gráfico 4**. Os resultados indicaram que a concentração de colesterol plasmático e LDL-C não apresentaram diferenças entre os grupos. Entretanto, o conteúdo de triacilgliceróis no grupo Obeso foi superior ao grupo Eutrófico ($p= 0,046$). Perfil inverso foi observado em relação ao HDL-C, onde os adolescentes obesos apresentaram valores inferiores ao grupo Eutrófico ($p= 0,002$).

Gráfico 4: Perfil lipídico dos adolescentes, segundo o IMC.

n= 242 indivíduos. Grupos: Eutrófico (n=77), Sobrepeso (n=82) e Obeso (n=83). Os dados são apresentados sob a forma de médias (intervalo de confiança) ou medianas (intervalo interquartis), conforme distribuição das variáveis. TG: Triacilgliceróis; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol associado à lipoproteína de alta densidade; LDL-C: colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste Bonferroni, com nível de significância de $p < 0,05$. * vs grupo Eutrófico.

Verificamos que os índices Castelli I (CT / HDL-C) e II (LDL-C / HDL-C) no grupo Eutrófico apresentaram valores menores que o grupo Obeso ($p= 0,004$ e $p= 0,019$, respectivamente). O colesterol não - HDL mostrou resultados similares entre os grupos ($p= 1,00$). A relação dos TG/HDL-C mostrou valores maiores nos grupos Sobrepeso e Obeso ($p= 0,034$ e $p < 0,001$, respectivamente), quando comparados ao grupo Eutrófico (**Tabela 4**).

Tabela 4: Índices de Castelli I e II, colesterol não HDL e TG/HDL-C, segundo o IMC.

Variáveis	Eutrófico	Sobrepeso	Obeso
CT / HDL-C	3,4 (2,9 – 4,1)	4,0 (2,7 – 5,3)	4,2 (3,2 – 5,6)*
LDL-C / HDL-C	2,1 (1,5 – 2,7)	2,6 (1,4 – 3,6)	2,4 (1,7 – 3,7)*
Não-HDL-C (mg/dL)	100,9 (93,2 - 108,6)	102,6 (94,2 - 111,0)	107,1 (97,7 - 116,6)

TG /HDL-C	1,8 (1,1 – 2,3)	2,3 (1,3 – 3,1)*	2,3 (1,5 – 3,9)*
-----------	-----------------	------------------	------------------

n= 242 indivíduos. Grupos: Eutrófico (n=77), Sobrepeso (n=82) e Obeso (n=83). Os dados são apresentados sob a forma de médias (intervalo de confiança) ou medianas (intervalo interquartis), conforme distribuição das variáveis. CT: colesterol total; LDL-C: colesterol associado à lipoproteína de baixa densidade, HDL-C: colesterol associado à lipoproteína de alta densidade; TG: Triacilgliceróis. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste Bonferroni, com nível de significância de $p < 0,05$. * vs grupo Eutrófico.

5.6 - Tamanho da HDL

A avaliação do tamanho da partícula não apresentou diferença significativa entre os 3 grupos (**Gráfico 5**). Além dos resultados brutos, também verificamos as relações entre o tamanho dessa partícula e o conteúdo de colesterol total (TAMHDL/COL-T) e o conteúdo de Triglicérides (TAMHDL/TG).

Gráfico 5 – Distribuição do tamanho da partícula da HDL, segundo o IMC.

n=242. Resultados apresentados sob a forma de média (desvio padrão). Diferenças entre as médias foram analisadas através de ANOVA. O nível de significância aceito foi de $p < 0,05$.

5.7 - Atividade da Paraoxonase (PON1)

Os resultados brutos da atividade da PON1 são apresentados no **Gráfico 6** e indicam que essa enzima variou significativamente e de modo inverso com o IMC.

Gráfico 6 – Atividade da PON-1, segundo o IMC.

n=242. Resultados apresentados sob a forma de média (desvio padrão). Diferenças entre as médias foram analisadas através de ANOVA. * vs grupo Eutrófico, ** vs grupo Sobrepeso. O nível de significância aceito foi de $p < 0,05$.

Além dos resultados brutos, também verificamos as relações entre a atividade da PON1 e o conteúdo de Colesterol Total e (PON1/COL-T) e o conteúdo de HDL-C (PON1/HDL-C). Verificamos que os grupos Sobrepeso e Obeso apresentaram valores menores de PON1/HDL-C, quando comparados ao grupo Eutrófico ($p=0,001$). Na relação PON1/COL-T, o grupo Obeso apresentou valores maiores em relação aos outros grupos ($p=0,001$) (**Gráfico 7**).

Gráfico 7 – Avaliação da relação entre a atividade da PON-1 com o conteúdo de HDL-C e COL-T.

n=242. Resultados apresentados sob a forma de média (desvio padrão). Diferenças entre as médias foram analisadas através de ANOVA. * vs grupo Eutrófico, ** vs grupo Sobrepeso. O nível de significância aceito foi de $p < 0,05$.

Verificamos correlações significativas entre a PON1 e CC ($r = -0,425$ e $p = 0,001$) e IMC ($r = -0,577$ e $p = 0,001$). De modo semelhante, observamos correlações entre PON1 e TG ($r = -0,19$ e $p = 0,003$) e HDL-C ($r = 0,153$ e $p = 0,001$) (**Gráficos 8**).

Gráfico 8 – Correlação entre PON1, parâmetros antropométricos e bioquímicos.

n= 242 adolescentes. PON1: Paraoxonase; TG: Triacilgliceróis; HDL: Lipoproteína de alta densidade; CC: Circunferência da Cintura; IMC: índice de massa corporal. A análise das correlações foi realizada através do Teste *Pearson* ou *Spearman*, com nível de significância de $p < 0,05$.

5.8 - Atividade da CETP

O **Gráfico 9** apresenta os resultados da atividade da CETP, distribuídos segundo o IMC e demonstra que essa enzima variou proporcionalmente ao IMC.

Gráfico 9: Atividade da CETP, segundo o IMC.

n= 240 indivíduos (grupo Eutrófico: 76, Sobrepeso: 82 e Obeso: 82 indivíduos). Os dados são apresentados sob a forma de médias (intervalo de confiança) ou medianas (intervalo interquartis), conforme distribuição das variáveis. CETP: Proteína transportadora de Éster de Colesterol. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste Bonferroni, com nível de significância de $p < 0,05$. * vs grupo Eutrófico, ** vs grupo Sobrepeso.

O **Gráfico 10** apresenta os resultados da atividade da CETP ajustados por triglicérides e colesterol total, segundo o IMC. Os resultados demonstraram que mesmo após o ajuste pelo colesterol total, atividade da CETP variou em função do IMC.

Gráfico 10: Atividade da CETP ajustada pela concentração de triacilgliceróis e colesterol total dos adolescentes, segundo o IMC.

n= 240 indivíduos (grupo Eutrófico: 76, Sobrepeso: 82 e Obeso: 82 indivíduos). Os dados são apresentados sob a forma de médias (intervalo de confiança) ou medianas (intervalo interquartis), conforme distribuição das variáveis. CETP: Proteína transportadora de Éster de Colesterol; TG: Triacilgliceróis; CT: colesterol total. A análise comparativa entre os grupos foi realizada através do teste Bonferroni, com nível de significância de $p < 0,05$. * vs grupo Eutrófico, ** vs grupo Sobrepeso.

6 - Discussão

Os dados sócio-econômicos avaliados reforçam o pareamento dos grupos, pois, com exceção da escolaridade paterna, as demais variáveis apresentaram perfis semelhantes. Desse modo, minimizamos o efeito de fatores sociais que podem influenciar de forma relevante o estado de saúde dos adolescentes e, conseqüente a comparação dos grupos. Mais recentemente, SCHAROUN-LEE *et al.* (2009) enfatizaram o impacto de múltiplos fatores socio-econômicos durante a complexa transição da infância para a idade adulta.

Com relação à classificação de estadiamento puberal proposta por MARSHALL & TANNER (1970) e MARSHALL (1969) observamos que não houve diferença entre os grupos ($p=0,71$). Fato importante em função da influência da maturação sexual sobre diversos parâmetros metabólicos avaliados no presente estudo. Vale ressaltar, ainda, que as mudanças hormonais ocorridas na adolescência influenciam diretamente a composição corporal desses indivíduos (BARBOSA *et al.*, 2006).

Quando observamos a história familiar de doenças vemos que os três grupos não apresentaram diferenças significativas entre si para a maioria das variáveis, exceto para hipertensão e obesidade. Alguns estudos mostram a importância do fator familiar na etiologia da hipertensão arterial. Em trabalho realizado em uma escola de ensino fundamental e médio da cidade de Fortaleza, Ceará, os antecedentes familiares para a hipertensão arterial foram identificados em 55,6% dos indivíduos avaliados. A presença de hipertensão na família determina maior risco para os filhos também desenvolverem hipertensão arterial (AGLONY *et. al.*, 2009; ARAUJO *et. al.*, 2008; CHAVES, 2006).

No ano de 2009, AGLONY *et. al.*, publicaram um trabalho sobre a prevalência de pressão arterial e história familiar em 112 crianças entre 6 e 13 anos de idade. Dos participantes, sete apresentaram alterações da pressão arterial e todos tinham história familiar para hipertensão arterial, demonstrando que história familiar de hipertensão esteve associada a maiores valores de pressão arterial nas crianças estudadas. De acordo com KELISHADI (2007), a história familiar de doenças crônicas aumenta o risco de síndrome metabólica em adolescentes de ambos os sexos.

Com relação à atividade física observamos diferenças entre os grupos, vale ressaltar aqui o viés existente com relação a essa variável, em função do questionário utilizado (Anexo 2) para atividade física. Embora os efeitos benéficos da prática regular de atividade física na redução do perfil cardiometabólico sejam amplamente descritos,

inclusive em crianças e adolescentes (ANDERSEN *et al.*, 2006); o elevado percentual de adolescentes que relataram exercer prática regular de exercícios físicos no presente estudo, nos leva a fazer algumas observações: I – os adolescentes incluíram em suas respostas as aulas de educação física oferecidas nas escolas públicas onde estudavam; II – houve uma superestimação intencional ou não no relato dos adolescentes; III – independente do tipo de atividade física exercida, duração, local, frequência e intensidade, essa está sendo insuficiente como estratégia preventiva de excesso de peso entre os adolescentes. Essa possibilidade foi previamente avaliada por WITTMEIER *et al.* (2008), ao verificarem que a atividade física de curta duração, mesmo que de elevada intensidade esteve associada a maior probabilidade de ocorrência de sobrepeso e obesidade.

O estilo de vida associado à atividade física e alimentação saudável tem sido destacado como aspecto essencial na prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares. Modificações dietéticas acompanhadas de um programa de exercícios físicos aeróbios potencializam as mudanças do perfil lipoprotéico plasmático (Diretriz de Reabilitação Cardíaca, 2005).

A atividade física é uma ferramenta importante para o aprimoramento e desenvolvimento do adolescente, nos seus aspectos morfofisiopsicológicos, pois pode aperfeiçoar o potencial físico determinado geneticamente (OEHLSCHLAEGER *et al.*, 2004). Além da prática de atividade física, à dieta nutricionalmente adequada pode ser um fator importante tanto de prevenção, quanto de tratamento da obesidade (ORTEGA *et al.*, 2008; CAVALCANTI *et al.*, 2010).

Os exercícios aeróbios com diferentes intensidades, durações e frequências, realizados por indivíduos com variadas faixas etárias e níveis de aptidão cardiorespiratória (VO_2 máx.), promovem aumento da HDL e da subfração HDL_2 , além de estarem associados à redução do índice de massa corporal, do estresse, do nível de catecolaminas e também contribuirão para o controle da pressão arterial (LANCHO *et al.*, 2011). Tanto a prática de exercícios de alta como de baixa intensidade, realizados em faixas de 85% a 90% do consumo máximo de oxigênio e em torno de 50% a 70% do consumo máximo de oxigênio, respectivamente, podem reduzir os triacilgliceróis e aumentar o HDL-C.

Além dos aspectos descritos acima, a atividade física favorece o aumento da atividade enzimática da lipase lipoprotéica, que favorece o maior catabolismo das

lipoproteínas ricas em triacilgliceróis, diminuição dos níveis de LDL-C e aumento da produção de HDL-C. Destaca-se também o aumento da enzima lecitina-colesterol-acil-transferase (LCAT) e diminuição da atividade da lipase hepática, favorecendo a formação de subfrações de HDL-C (LANCHO *et al.*, 2011). Apesar desses aspectos positivos, SANTOS *et al.*, (2008) verificaram que a atividade física na infância não garante proteção cardiovascular na vida adulta se não estiver aliada a um estilo de vida saudável.

Mais recentemente, JAGO *et al.*, (2009) descreveram que intervenções direcionadas aos adolescentes devam ter estratégias direcionadas às mudanças na alimentação e combate ao sedentarismo de forma isolada ou associada, com o objetivo de diminuir a obesidade nessa faixa etária.

Observando-se os parâmetros antropométricos observa-se que esses reforçam a divisão dos grupos conforme proposto, tanto com relação ao IMC quanto a circunferência da cintura. A obesidade e, particularmente, a gordura abdominal tem grande impacto sobre as doenças cardiovasculares por associar-se, com grande frequência, às dislipidemias, hipertensão arterial, resistência à insulina e diabetes, o que favorece a ocorrência de eventos coronarianos (PITANGA, 2011). Embora o excesso de peso agrave todas essas co-morbidades sabe-se que indivíduos com excesso de gordura abdominal, mesmo tendo IMC normal, têm perfil cardiometabólico aumentado (PITANGA, 2011).

Ainda que diversos métodos possam ser utilizados na caracterização da distribuição do tecido adiposo, métodos mais acurados como a tomografia computadorizada e ressonância magnética são de alto custo e de difícil execução. Portanto, a antropometria tem sido muito aplicada para esse fim, por meio da construção de índices antropométricos mais precisos, a partir de medidas antropométricas de fácil mensuração, obtidas a baixo custo. Segundo PITANGA e LESSA (2005), a CC tem maior poder discriminatório para classificar o perfil cardiometabólico elevado do que o IMC. Apesar dessas prévias observações, no presente estudo, observamos que tanto a CC, quanto o percentual de gordura variam proporcionalmente ao IMC.

Embora a CC e a MG tenha apresentado correlação no presente estudo, JANSSEN *et al.*, (2002) descreveram que a obesidade central tem associação mais robusta com gordura visceral do que o IMC e, portanto essa seria uma medida mais sensível para mensurar o perfil cardiometabólico dos indivíduos. Nesse sentido, a circunferência da cintura tem sido sugerida como um importante marcador precoce do desenvolvimento de

doenças crônicas, assim como, uma ferramenta prática para identificar crianças com risco de síndrome metabólica (PITANGA, 2011).

Além da antropometria, o estudo de HAQ *et al.* (1999), realizou a comparação de diferentes métodos para avaliar o perfil cardiometabólico elevado (RCE), sugerindo a incorporação da razão colesterol total/HDL-C. De modo semelhante, Castelli *et al.*, (1983) abordou a importância do colesterol total e a proporção individual de colesterol nas classes das lipoproteínas para o desenvolvimento das doenças coronarianas e mostrou correlação negativa entre a HDL-C e DAC e positiva entre LDL-C e DAC.

Em nosso estudo, verificamos que quanto maior o IMC, maiores foram os valores da massa gorda e da relação colesterol/HDL, sugerindo que nesses adolescentes, o perfil cardiometabólico é maior.

O período da puberdade está associado tanto com o aumento de massa magra, como de tecido adiposo, ocorrendo maior acúmulo de gordura corporal nas meninas (MORAN *et al.*, 2009). Apesar do excesso de peso contribuir para a maturação sexual mais precoce nas meninas (JAGO *et al.*, 2009), no presente estudo houve semelhança entre o grupo quanto ao número e estágio de maturação sexual de meninas.

Observamos que o perfil lipídico dos adolescentes demonstrou através do colesterol HDL um maior risco para adolescentes obesos e sobrepesos. SINAIKO *et al.* (2005) observaram que adolescentes com maiores valores de IMC apresentaram os maiores valores de lipídios séricos e diminuição de HDL. Os principais relatos de anormalidade no perfil lipídico em crianças e adolescentes têm sido identificados como hipertrigliceridemia, e reduzidos valores de HDL-C, na maioria das vezes associados a resistência a insulina (STEINBERGER *et al.*, 2009).

Resultado semelhante foi obtido por SANTOS *et al.* (2003), ao observarem que os indivíduos obesos possuíam maior concentração de triacilgliceróis (100 ± 42 mg/dL), quando comparados aos eutróficos (89 ± 35 mg/dL). No estudo de REINEHR *et al.* (2005) verificaram que crianças obesas possuem concentração mais elevada de triacilgliceróis plasmáticos. Resultados semelhantes também foram descritos por CARVALHO *et al.* (2007) ao avaliarem crianças de Campina Grande (Paraíba), onde a dislipidemia esteve presente em 66,7% dos adolescentes, sendo que 56,7% apresentaram alteração na fração HDL.

Comparando a elevada prevalência de dislipidemias na amostra estudada com os resultados descritos na literatura, verificamos que os baixos valores de HDL encontrados em nosso estudo também foram descritos por FRANCA *et al.*, (2006),

LIMA *et al.*, (2005), SCHERR *et al.*, (2007). Apesar dessas observações, GIUGLIANO *et al.* (2005), ao estudarem uma amostra de crianças e adolescentes de 7 a 18 anos, estudantes de escolas públicas de Florianópolis, encontraram valores médios de HDL superior (53 ± 10 mg/dl).

Considerando a importância da avaliação do perfil lipídico dos adolescentes e do risco de DAC associado à obesidade, realizamos diversas análises a partir do perfil lipídico, visando melhor caracterizar os parâmetros lipídicos da amostra inclusa no estudo. O índice de Castelli I, índice de Castelli II e colesterol não associado à HDL, reforçaram a tendência a maior risco cardiovascular para os grupos sobrepeso e obeso. De acordo com CASTELLI *et al.* (1986) a diminuição de 4,0 mg/dL de colesterol associado à HDL está relacionada ao aumento de 10% no risco de doença arterial coronariana. Os índices de Castelli se mostram importantes ao evidenciarem as proporções entre HDL-C e as outras frações lipoprotéicas (KASTELEIN *et al.*, 2008). Em adição, PRADHAN *et al.* (2008) encontraram associação positiva entre índice de Castelli I e doença arterial periférica. Reforçando a sensibilidade desses índices, CODOÑER-FRANCH *et al.* (2009), verificaram que adolescentes com diabetes tipo I têm índice de Castelli I mais elevado, embora os parâmetros lipídicos isolados tenham apresentado perfil normal.

Além da existência da relação inversa entre HDL e Doenças cardiovasculares (DCV), alterações no tamanho, na composição e na estrutura da HDL podem comprometer a funcionalidade e interferir com suas propriedades antiaterogênicas (SVIRIDOV *et al.*, 2008). A HDL está constantemente sendo remodelada e as transferências de lipídeos são essenciais para o transporte reverso e a esterificação do colesterol (ECKARDSTEIN *et al.*, 2001), consideradas etapas fundamentais na prevenção da aterosclerose.

A transferência de lipídeos entre as lipoproteínas é bidirecional, resultando na depleção ou enriquecimento de determinados lipídeos. As transferências dependem das concentrações e da estrutura das lipoproteínas doadoras e aceptoras (FERRETTI *et al.*, 2006), assim como da ação de proteínas de transferências, tais como a proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP) e proteína de transferência de fosfolipídeos (PLTP) (SVIRIDOV *et al.*, 2008). De acordo com HAGBERG *et al.*, (2006) a avaliação do perfil cardiometabólico pode ser ampliada com o monitoramento das características físicas da HDL, por exemplo, o tamanho das lipoproteínas. No presente estudo não encontramos diferença entre o tamanho das partículas de HDL.

Segundo o estudo de Sanchez & Leon, (2001), a prática de exercícios físicos melhora o perfil lipídico e, assim, reduz o perfil cardiometabólico. Em uma meta-análise com 52 estudos avaliando o efeito do treinamento físico, Leon e Sanchez, (2001), encontraram um aumento de 4,6% do HDL-C, redução de 3,7% de triacilgliceróis e 5% do LDL-C. Posteriormente, Kraus *et.al.*, (2002) encontraram relação positiva entre a prática de exercício físico regular e o perfil das lipoproteínas, incluindo o aumento da concentração de HDL-C. Segundo Mello *et al.* (2007), o conteúdo de HDL-C e LDL-C sofre influência da prática de exercício e/ou atividade física. Entretanto, não apresenta relação com o tamanho da partícula da HDL.

A paraoxonase (PON1) é descrita como um antioxidante e apresenta propriedades cardioprotetoras (CONELLY *et al.*, 2009). Populações saudáveis de diferentes países têm diferenças na atividade da PON1. Diferenças no estado nutricional podem influenciar, porém há poucas evidências dessa associação. De acordo com DURRINGTON, (2009) processos inflamatórios modificam a atividade PON1.

A obesidade infantil é um fator predisponente para doenças cardiovasculares no adulto. A PON1 previne a aterosclerose por inibir a peroxidação lipídica. De modo semelhante ao observado no presente estudo, KONCSOS *et al.*, (2009) verificaram que a PON1 esteve reduzida nos indivíduos obesos. Esse mesmo perfil foi observado após o ajuste da PON pelo colesterol total e pela HDL-C, onde o grupo eutrófico apresentou maior atividade que os grupos Sobrepeso e Obeso.

A CETP modula a transferência de ésteres de colesterol da HDL por TG das partículas contendo apoB (SVIRIDOV *et al.*, 2008); enquanto a PLTP catalisa a transferência de fosfolípidos e colesterol entre HDL e a interconversão das HDL (JIANG e ZHOU, 2006). As ações destas proteínas alteram a composição e a estrutura da HDL.

Em estudo recente, MAGKOS *et al.* (2009) descreveram que os indivíduos obesos apresentaram aproximadamente 20% de CETP, 20% de lipase lipoprotéica (LPL) e 30% de lecitina colesterol acil-transferase (LCAT) a mais do que os eutróficos. Nesse mesmo estudo, os autores concluíram que as alterações na CETP, LCAT e na LPL aumentam o perfil cardiometabólico desses indivíduos. No presente estudo, verificamos que o grupo Obeso apresentou atividade da CETP 46% maior que o Sobrepeso e 60% maior que o Eutrófico e, portanto, evidenciando um maior perfil cardiometabólico entre adolescentes obesos. Esse mesmo perfil foi observado após o ajuste da CETP pelo colesterol total, onde o grupo Obeso apresentou maior atividade

que os Eutróficos e Sobrepesos. De modo inverso, quando a atividade da CETP foi ajustada pela concentração de triacilgliceróis, os grupos passaram a ter um perfil semelhante entre si. Portanto, considerando que a obesidade está relacionada diretamente com a dislipidemia, e que essa favorece o desenvolvimento da doença arterial coronariana, o monitoramento da CETP pode representar um importante marcador associado à homeostase do perfil lipídico.

7. Conclusão

Considerando os objetivos do presente estudo, os resultados obtidos nos permitem apresentar as seguintes conclusões:

1. Os adolescentes incluídos no estudo apresentam um perfil semelhante quanto à escolaridade materna e renda familiar, demonstrando que essas variáveis não foram responsáveis pelos distintos desfechos metabólicos observados entre os grupos;
2. Conforme esperado, a estratificação dos adolescentes, segundo o IMC confirmou que todos os grupos foram diferentes entre si, perfil reforçado pelos resultados de CC e % de gordura corporal;
3. Adolescentes obesos têm menor conteúdo de colesterol associado na HDL, embora esse perfil não tenha sido confirmado pelo tamanho da HDL;
4. A atividade da PON1 variou significativamente em função do IMC;
5. A atividade da CETP variou proporcionalmente ao IMC;

Portanto, os resultados obtidos no presente estudo demonstram que adolescentes com excesso de peso, mesmo ainda considerados clinicamente saudáveis, apresentam diversos parâmetros antropométricos e bioquímicos alterados, o que indica um perfil cardiovascular menos favorável nessa população. Além da existência da relação inversa entre HDL e Doenças cardiovasculares (DCV), alterações no tamanho, na composição e na estrutura da HDL podem comprometer a funcionalidade e interferir nas suas propriedades antiaterogênicas. Nesse sentido, torna-se importante realizar novos estudos voltados à avaliação do impacto do excesso de peso sobre outros parâmetros que compõem a funcionalidade da HDL, pois seu papel cardioprotetor independe de modificações adicionais em outras lipoproteínas (p. ex. LDL).

8. Referências Bibliográficas

- Abdalla AE, Roozen JP. Effect of plant extracts on the oxidative stability of sunflower oil and emulsion. *Food. Chem, Amsterdam* 1999; 64:323-329.
- Abegunde DO, Mathers CD, Adam T, Ortegon M, Strong K. The burden and costs of chronic diseases in low-income and middle-income countries. *Lancet*. 2007;370(9603):1929-38.
- Abrantes MM, Lamounier JA, Colosismo EA. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das regiões sudeste e nordeste. *J Pediatr* 2002; 78 (4):335-340.
- Aglony M, Arnaiz P, Acevedo M, Barja S, Márquez S, Guzmán B, et al. Perfil de presión arterial e historia familiar de hipertensión en niños escolares sanos de Santiago de Chile. *Rev Med Chile*. 2009;137(1):39-45.
- Araujo TLA, Lopes MVO, Cavalcante TF, Guedes NG, Moreira RP, Chaves ES, et al. Análise de indicadores de risco para hipertensão arterial em crianças e adolescentes. *Rev Esc Enferm USP*. 2008;42(1):120-6.
- Asayama K, Hayashibe H, Dobashi K, Uchida N, Nakane T, Kodera K, Shirahata A. Increased serum cholesteryl ester transfer protein in obese children. *Obesity Research*. 2002;10(6):439-46.
- Ashen MD, Blumenthal RS. Low HDL-cholesterol levels. *N Engl J Med*. 2005;352:1252-60
- Assmann G, Gotto AM. HDL-cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation* 2004;109:III8-14.
- Barter P; Kastelein J; Nunn A, et al. High density lipoproteins and atherosclerosis; the unanswered questions. *Atherosclerosis*. 2003;168:195-211.
- Barter PJ, Brewer Jr B, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR. Cholesteryl Ester Transfer Protein. A novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:160-7.
- Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL *Circ Res*. 2004;95:764-72.
- Barter, P. High-density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis: the unanswered questions. *Atherosclerosis* 2003; 168 (2): 195-211.

BER G, K. K. *et al.* The additive contribution from inflammatory genetic markers on the severity of

Bhattacharyya T, Nicholls SJ, Topol EJ, Zhang R, Yang X, Schmitt D, Fu X, Shao M, Brennan DM, Ellis SG, Brennan ML, Allayee H, Lusis AJ, Hazen SL. Relationship of paraoxonase 1 (PON1) gene polymorphisms and functional activity with systemic oxidative stress and cardiovascular risk. *Jama* 2008; 19(11):1265-76.

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.

Brown AA, Hu FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:673-86

Brunham LR, Kruit JK, Iqbal J, Fievet C, Timmins JM, Pape TD, Coburn BA, Bissada N, Staels B, Groen AK, Hussain MM, Parks JS, Kuipers F, Hayden MR. Intestinal ABCA1 directly contributes to HDL biogenesis in vivo. *J Clin Invest.* 2006;116(4):1052-62.

Campos ME, Brandão AA, Freitas EV, Pozzan R, Brandão AP. Novas Perspectivas no Tratamento das Dislipidemias. *Revista da SOCERJ.* 2004;105-111.

Caramelli B, Giuliano I. Adolescentes do mundo todo: mexam-se!!! *Jornal de Pediatria,* 2005; 81(6).

cardiovascular disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, v. 69, p. 36-42, 2009.

Cavalcanti CBFi, Barros MVG, Meneses AL, Santos CM, Azevedo AMP, Guimarães FJSP. Abdominal Obesity in Adolescents: Prevalence and Association with Physical Activity and Eating Habits. *Arq Bras Cardiol* 2010; 94(3):371-377

Cecconello I, Santos MA. Morbid obesity: risks control *Arq. Gastroenterol.* 2008;45(1).

Chapman MJ, Goldstein S, Lagrange D, Laplaud PM. A density gradient ultracentrifugal procedure for the isolation of the major lipoprotein classes from human serum. *J Lipid Res.* 1981; 22(2):339-58.

Chapman MJ. Are the effects of statins on HDL-cholesterol clinically relevant? *Eur Heart J Suppl.* 2004;6(Suppl C):C58-C63.

- Chaves ES. Acompanhamento de crianças e adolescentes com história familiar de hipertensão arterial[tese]. Fortaleza: Departamento de Enfermagem, Universidade Federal do Ceará; 2007.
- Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med*. 2000; 28:1815-26.
- Cole T, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000;320:1-6.
- Costa AGV, Priore SE, Sabarense CM, Franceschini SCC. Questionário de frequência de consumo alimentar e recordatório de 24 horas: aspectos metodológicos para avaliação da ingestão de lipídeos. *Rev Nutr*. 2006;19(5):631-41
- DA LUZ , P. L. *et al*. High *ratio* of triglycerides to HDL -cholesterol *ratio* predicts extensive coronary disease. *Clinics*, v. 63, p. 427-32, 2008.
- Dietz WH. Childhood weight affects adults morbidity and mortality. *J Nutr*. 1998; 128 (2 suppl):411S-4S.
- Ebenbichler CF, Laimer M, Kaser S, *et al*. Relationship between cholesteryl ester transfer protein and atherogenic lipoprotein profile in morbidly obese women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1465–9.
- Eckardstein A, Nofer JR, Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:13-27.
- Edmunds L, Water E, Elliott EJ. Evidence based management of childhood obesity. *BMJ* 2001;323:916-9.
- Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 1984; 25:1917-1058.
- Emerson S, Maranhão RC. Rapid, simple laser-light-scattering method for HDL particle sizing in whole plasma. *Clin Chem* 2004; 50:1086-1088.
- Escargueil-Blanc I, Meilhac O, Pieraggi MT, Arnal JF, Salvayre R, Negre-Salvayre A. Oxidized LDLs induce massive apoptosis of cultured human endothelial cells through a calcium-dependent pathway: prevention by aurintricarboxylic acid. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17:331-9.
- Faludi AA; Araujo DB; Bertolami A. Controle lipídico total: além do LDL-colesterol. *Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo*;21(2):9-14, abr.-jun. 2011
- 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. *The Journal of Pediatrics* 2004;145:439-44.
- Ferretti G, Bacchetti T, Marchionni C, Caldarelli L, Curatola G. Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol.* 2001; 38(4):163-9.
- Ferretti G, Bacchetti T, Negre-Salvayre A, Salvayre R, Dousset N, Curatola G. Structural modifications of HDL and functional consequences. *Atherosclerosis.* 2006;184:1-7.
- Fisberg M, Latorres C, Carandina BG. Fatores associados à qualidade da dieta de adultos residentes na Região Metropolitana de São Paulo, Brasil, 2002. *Cad. Saúde Pública.* 2008; 24 (1).
- Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, et al. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med.* 2007; 356: 2388-98.
- Francone OL, Aiello RJ. ABCA1: regulation, function and relationship to atherosclerosis. *Curr Opin Investig Drugs* 2002; 3 (3): 415-9.
- Fredenrich, A, Bayer, P. Reverse cholesterol transport, high-density lipoproteins and HDL cholesterol: recent data. *Diabetes Metab* 2003; 29 (3): 201-05.
- Frisancho AR, Tracer DP. Standards of arm muscle by stature for the assessment of nutritional status of children. *Am J Phys Anthropol* 1987;73:459-65.
- Garcia GCB, Gambardella AMD, Frutuoso AFP. Estado nutricional e consumo alimentar de adolescentes de um centro de juventude da cidade de São Paulo. *Rev. Nutr., Campinas* 2003; 16(1):41-50.
- Getz GS, Reardon CA. **Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues. Lipid metabolism.** *Current Opinion in Lipidology* 2004;15(3):261-267.
- Greaves KA, Going SB, Fernandez ML, Milliken LA, Lohman TG, Bassford T, McNamara DJ. Cholesteryl ester transfer protein and lecithin: cholesterol acyltransferase activities in hispanic and anglo postmenopausal women: associations with total and regional body fat. *Metabolism* 2003 Mar;52(3):282-9.

- Grillo LP, Crispim SP, Siebert AN, Wippel AT, Rossi A, Campos IC. Lipid profile and obesity in low income school children. *Rev. bras. epidemiol.* 2005; 8 (1).
- Hansel B, Giral P, Nobecourt E, Chantepie S, Bruckert E, Chapman MJ, Kontush A. Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(10):4963-71.
- Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation.* 2007;116(9):1081-1093.
- Hill AJ, Rogers PJ, Blundell JE. Techniques for the experimental measurement of human eating behavior and food intake: a practical guide. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 1995; 19 (6):361-75.
- Hu FB. Obesity epidemiology. USA: Oxford University Press; 2008.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamento familiar (POF) 2002/2003. [Acesso em 2008 set. 20]. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>.
- Jiang XC, Zhou HW. Plasma lipid transfer proteins. *Curr Opin Lipidol.* 2006;17:302-8.
- Kabaroglu C, Mutaf I, Boydak B, Ozmen D, Habif S, Erdener D, Parildar Z, Bayindir O. Association between serum paraoxonase activity and oxidative stress in acute coronary syndromes. *Acta Cardiol* 2004; 59(6):606-11
- Kazapi IM, Pietro PF, Avancini SRP, Freitas SFT, Tramonte VLCG. Consumo de Energia e Macronutrientes por Adolescentes de Escolas Públicas e Privadas. *Rev. Nutr., Campinas* 2001; 14 (suplemento): 27-33.
- Kennedy ET, OHLS J, Carlon S, Fleming K. The Healthy Eating Index: design and applications. *J Am Diet Assoc.* 1995; 95(10):1103-1108.
- Kontush A, Chancharme L, Escargueil-Blanc I, Therond P, Salvayre R, Negre-Salvayre A, Chapman MJ. Mildly oxidized LDL-C particle subspecies are distinct in their capacity to induce apoptosis in endothelial cells: role of lipid hydroperoxides. *FASEB J.* 2003; 17:88-90.

- Kontush A, Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003; 23(10):1881-8.
- Kontush A, Chapman MJ. Antiatherogenic small, dense HDL-guardian angel of the arterial wall? *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2006; 3(3):144-53.
- Kontush A, de Faria FC, Chantepie S, Chapman MJ. A normotriglyceridemic, low HDL-cholesterol phenotype is characterised by elevated oxidative stress and HDL particles with attenuated antioxidative activity. *Atherosclerosis.* 2005; 182(2):277-85.
- Krauss RM. Heterogeneity of plasma low-density lipoproteins and atherosclerosis risk. *Curr Opin Lipidol.* 1994; 5:339-349
- Kruger J, Ham SA, Prohaska TR. Behavioral risk factors associated with overweight and obesity among older adults: the 2005 National Health Interview Survey. *Prev Chronic Dis.* 2009;6(1):1-17.
- Kwiterovich PO. The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein and triglycerides: a current review. *Am J Cardiol.* 2000;86 (Suppl):5L-10L.
- Lapointe A, Balk EM, Lichtenstein AH. Gender differences in plasma lipid response to Lapointe A, Couillard C, Lemieux S. Effects of dietary factors on oxidation of low-density lipoprotein particles. *J. Nutr. Biochem* 2006; 17:645- 58.
- Laurenti R, Buchalla CM, Carantin CVS. Doença isquêmica do coração: internações, tempo de permanência e gastos. Brasil, 1993 a 1997. *Arq Bras Cardiol* 2000; 74 (6): 483-7.
- Li Z, McNamara JR, Ordovas JM, Schaefer EJ. Analysis of high density lipoproteins by a modified gradient gel electrophoresis method. *J Lipid Res.* 1994; 35:1698-711
- Lohman TG, Roche AF, Martorell R. 1988. Anthropometric Standarization Reference. Manual. Champaign: Human Kinetics Books.
- Lolio CA, Lotufo PA, Lira AC, et al. Tendência da mortalidade por doença isquêmica do coração nas capitais de regiões metropolitanas do Brasil, 1979-89. *Arq Bras Cardiol* 1995; 64 (3): 213-6.
- Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett.* 1991;286:152- 4.
- Mackness MI, Durrington PN, Mackness B. How high-density lipoprotein protects against the effects of lipid peroxidation. *Curr Opin Lipidol* 2000;11:383-8.

- Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Childhood*. 1970;44:13-23.
- Maselli LMF. Estudo dos polimorfismos das paraoxonases 1 e 2 em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana e avaliação do potencial de peroxidação lipídica [Tese]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2007.
- McGill HC Jr, McMahan CA, Gidding SS. Preventing heart disease in the 21st century: implications of the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) study. *Circulation*. 2008; 117: 1216-27.
- Mertz W. Foods and nutrients. *J Am Diet Assoc*. 1984; 84(7):769-70.
- Ministério da Saúde. Coordenação geral de análise de informação de saúde. Banco de dados dos sistemas de informação sobre mortalidade (SIM) e nascidos vivos (SINASC) 1996 a 2000. [CD-ROM]. Brasília/DF, 2002.
- Ministério da Saúde. Saúde Brasil 2007: uma análise da situação de saúde. Brasil; 2007.
- Moura EC, Moraes Neto OL, Malta DC, Moura L, Silva NN, Bernal R, et al. Vigilância de Fatores de Risco para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal (2006). *Rev Bras Epidemiol*. 2008;11(Supl 1):20-37
- Navab M, Hama SY, Van Lenten BJ, Fonarow GC, Cardinez CJ, Castellani LW, Brennan ML, Lusis LJ, Fogelman AM. Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio. *J Clin Invest* 1997;99:2005–20.
- NCSS Statistical Software. Power Analysis Sample Size (PASS). USA, 2005.
- Nofer JR, Kehrel B, Fobker M, et al. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*. 2002;161:1-16.
- Nofer JR, Kehrel B, Fobker M, Levkau B, Assmann G, Von Eckardstein A. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*. 2002; 161(1):1-16.
- Nofer J-R, Levkau B, Wolinska I, Junker R, Fobker M, von Eckardstein A, Seedorf U, Assmann G. Suppression of endothelial cell apoptosis by high density lipoproteins (HDL-C) and HDL-associated lysosphingolipids. *J Biol Chem*. 2001; 276 (37):34480-5.
- OEHLSCHLAEGER MHK, PINHEIRO, RT, HORTA B; GELATTI C, SANTANA P. Prevalência e fatores associados ao sedentarismo em adolescentes de áreas urbana. *Revista Saúde Pública*. São Paulo, v. 38, n.2, p. 157 – 163, abr. 2004

- Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow RC. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med*. 2005; 52: 1138-45.
- Oram JF. ATP-binding cassette transporter A1 and cholesterol trafficking. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13 (4): 373-81.
- Organização Mundial da Saúde (OMS). Obesity and Overweight. [acesso em 08/09/2007]. Disponível em: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/media/em/gsf Obesity.pdf>.
- Ortega FB, Ruiz JR, Hurtig-Wennlöf A, Vicente-Rodriguez G, Rizzo NS, Castillo MJ, et al. Cardiovascular fitness modifies the associations between physical activity and abdominal adiposity in children and adolescents: the European Youth Heart Study. *Br J Sports Med*. 2008.
- Philippi ST, Latterza AR, Cruz ATR, Ribeiro LC. Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. *Rev Nutr* 1999; 12:65-80.
- Popkin BM. Global context of obesity. *Handbook of Obesity Prevention*. 2007;227-38.
- Programa De Apoio A Nutrição- NutWin [software]. Departamento de Informática em Saúde. Universidade Federal de São Paulo; 2002.
- Radeau T, Robb M, Mc Pherson R. Preferential expression of cholesteryl ester transfer protein mRNA by stromal-vascular cells of human adipose tissue. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1392:245-53.
- Reddy ST, Devarajan AA, Bourquard NA, Shih DA, Fogelman AMA. Is it just paraoxonase 1 or are other members of the paraoxonase gene family implicated in atherosclerosis? Hyperlipidaemia and cardiovascular disease. Current Opinion in Lipidology. 19(4): 405-408, August 2008.*
- Ribas V, Sanchez-Quesada JL, Anton R, Camacho M, Julve J, Escola-Gil JC, Vila L, Ordonez-Llanos J, Blanco-Vaca F. Human apolipoprotein A-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties: a new mechanism linking HDL protein composition and antiatherogenic potential. *Circ Res*. 2004; 95(8):789-97

- Roland IA, Maranhão RC. Transfer of phospholipids and cholesterol from triglyceride-rich emulsions to HDL in rats treated with alloxan propylthiouracil or ethanol. *Braz. J Med Biol Res* 1993; 26:109-118.
- Romaldini CC, Issler H, Cardoso AL, Diamant J, Forti, N. Fatores de risco para aterosclerose em crianças e adolescentes com história familiar de doença arterial coronariana prematura. *Jornal de Pediatria* 2004; 80(2): 135-40.
- Rye KA, Barter PJ. Formation and metabolism of pre-beta-migrating, lipid-poor apolipoprotein A-I. *Arterioscler Thromb Vasc Bio* 2004; 24 (3): 421-8.
- Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodeling of high-density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis* 1999; 145:227-238.
- Santos LMP, Oliveira IV, Peters LR, Conde WL. Trends in morbid obesity and in bariatric surgeries covered by the Brazilian public health system. *Obes Surg*. 2010;20(7):943-8.
- Schaefer, EJ. Lipoproteins, nutrition and heart disease. *Am J Clin Nutr*. 2002;75(2):191-212.
- Shih DM, Gu L, Xia YR, Navab M, Li WF, Hama S, Castellani LW, Furlong CE, Costa LG, Fogelman AM, Lusis AJ. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*. 1998; 394(6690):284-7.
- Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 2005; 84 (supl.1): 10.
- Sposito, CA et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2007; 88(S1): 2-18.
- SPSS Incorporation. Statistical package for the social science for windows student version/ SPSS (computer program) release 13.0 Chicago: marketing department, 2000.
- Strunz CC, Oliveira TV, Vinagre JC, Lima A, Cozzolino S. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoproteins, and high-density lipoprotein function in human subjects. *Nutr Res*. 2008;28(3):151-5.
- Suc I, Escargueil-Blanc I, Troly M, Salvayre R, Negre-Salvayre A. HDL-C and apoA prevent cell death of endothelial cells induced by oxidized LDL-C. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17:2158-66.

- Sviridov D, Mukhamedova N, Remaley AT, Chin-Dusting J, Nestel P. Antiatherogenic functionality of high density lipoprotein: how much versus how good. *J Atheroscler Thromb*. 2008;15:52-62.
- Sviridov D, Mukhamedova N, Remaley AT, Chin-Dusting J, Nestel P. Antiatherogenic functionality of high density lipoprotein: how much versus how good. *J Atheroscler Thromb*. 2008;15:52-62.
- Tall AR, Jiang X, Luo Y, Silver D. 1999 George Lyman Duff memorial lecture: lipid transfer proteins, HDL-C metabolism, and atherogenesis. *Atheroscler Thromb Vasc Biol*. 2000; 1999(20):1185-88
- Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res*. 1993;34:1255-74.
- Thijssen MA, Mensink RP. (2005) Fatty acids and atherosclerotic risk. *Handb. Exp. Pharmacol*. 2005; (170):165-94.
- Thompson D, Obarzanek E, Franko D, Barton B, Morrison J, Biro F, Daniels S, Striegel-Moore RH. Childhood Overweight and Cardiovascular Disease Risk Factors: The National Heart, Lung, and Blood Institute Growth and Health Study. *JPediatr*. 2007;150:18-25.
- Ursini F, Sevanian A. Postprandial Oxidative Stress. *Biol Chem*. 2002;383:599-605.
- Van Himbergen TM, Roest M, Graaf J, Jansen EHJM, Hattori H, Kastelein JJP, Voorbij HAM, Stalenhoef AFH, Van Tits LJH. Indications that paraoxonase-1 contributes to plasma high density lipoprotein levels in familial hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 2005; 46:445-451.
- Waitzberg DL. *Nutrição oral, enteral e parental na prática clínica*. São Paulo: Ed. Atheneu, 2000.
- Wang Y, Monteiro CA, Popkin BM. Trends of obesity and underweight in older children and adolescents in the United States, Brazil, China, and Russia. *Am J Clin Nutr*. 2002; 75(6):971-7.
- Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidised lowdensity lipoprotein. *J Clin Invest* 1995;96:2882–2891.

- Weinstein SJ, Vogt TM, Gerrior SA. Healthy Eating Index scores are associated with blood nutrient concentrations in the Third Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Diet Assoc* 2004; 104(4):576-584.
- Wright AJA, Southon S, Chopra M, Wenger AM, Moser U, Granado F, Olmedilla B, Corridan B, Hinniger I, Roussel AM, Berg HVD, Thurnham DI. Comparison of LDL fatty acid and carotenoid concentrations and oxidative resistance of LDL in volunteers from countries with different rates of cardiovascular disease. Revised 23 July 2001.
- Yannakoulia M, Panagiotakos D, Pitsavos C, Lentzas Y, Chrysohooou C, Skoumas I, et al. Five-Year Incidence of Obesity and Its Determinants: The ATTICA Study. *Pub Heal Nutr*. 2009;12(1):36-43.
- Zabotto CB, Vianna RPT, Gil MF. Registro Fotográfico para Inquéritos Dietéticos. Utensílios e Porções. Mato Grosso do Sul: Inan, 1996; 1.
- Zimmet P, Albert G, Shaw J. A new IDF worldwide definition of the metabolic syndrome: the rationale and the results. *Diabetes Voice* 2005;50(3):31-33.

Anexos

Anexo 1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O estudo: **Influência da Obesidade em Adolescentes sobre a atividade Paraoxonase (PON1) e o tamanho da Lipoproteína de Alta Densidade (HDL)** tem como objetivo avaliar influência da obesidade em adolescentes sobre a atividade paraoxonase (PON1) e o tamanho da lipoproteína de alta densidade (HDL). Para a realização do mesmo, será coletada uma amostra de sangue (20,0 ml) e passará por aferições antropométricas. Todos os resultados obtidos estarão a sua disposição, sendo que sua identidade será mantida em total sigilo. O adolescente terá o direito de se retirar do projeto a qualquer momento. Sua participação ou não neste estudo não o comprometerá de qualquer forma. Este projeto será desenvolvido pelo Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade São Paulo. A pesquisa tem caráter de diagnóstico e não de intervenção. Portanto, o risco é considerado mínimo. Contudo devido ao jejum para coleta de sangue ocasionalmente podem ocorrer tonturas ou enjoos. Os materiais de coleta de sangue são totalmente descartáveis, porém a coleta de sangue pode raramente gerar um pequeno hematoma (manchas roxas) no local de punção. Neste contexto, os benefícios para a população incluída no estudo ainda são experimentais, mas visualizam a identificação de comportamentos alimentares mais saudáveis para a população adolescente. Todos os resultados serão entregues aos participantes do estudo, sendo que orientações específicas (sugestão para procurar um profissional médico e/ou nutricionista) serão dadas quando estes resultados indicarem risco à saúde destes indivíduos.

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, autorizo _____ participar do presente Protocolo de Pesquisa:

São Paulo, ____ de _____ de 20 ____

Responsável:

Natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc.):

Sexo:

RG:

CPF:

Data de Nascimento:

Endereço:

Telefone:

Profa. Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno – Coordenadora-Chefe

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. Protocolo de avaliação sócio-econômica cultural, clínica e antropométrica

AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA CULTURAL, CLÍNICA E ANTROPOMÉTRICA		
1. AVALIAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA		
<u>1.1</u> Nome:		
Responsável:	<u>1.2</u> Idade:	<u>1.3</u> Sexo: <u>1</u> () F <u>2</u> () M
1.4 Endereço		
1.5 Telefone: Res -	Cel. -	Trab. Responsável:
1.6 Escolaridade: <u>1</u> () Ensino fundamental incompleto – 4ª série <u>2</u> () Ensino fundamental completo – 8ª série <u>3</u> () Ensino médio incompleto <u>4</u> () Ensino médio completo – 3º ano		
1.7 Membros na família: <u>1</u> () 2 <u>2</u> () 3-4 <u>3</u> () > 4		
2. AVALIAÇÃO CLÍNICA		
2.1 Usa algum medicamento e/ou vitaminas: <u>1</u> () Sim <u>2</u> () Não Qual? _____ Frequência? _____ Indicação? _____		
2.2 Tem algum tipo de doença? Qual?		
2.3 Existe algum familiar com: Diabetes () Sim () Não Quem? _____ Hipertensão () Sim () Não Quem? _____ Doença cardíaca () Sim () Não Quem? _____ Obesidade () Sim () Não Quem? _____ AVC () Sim () Não Quem? _____		
2.4 Pratica algum esporte? Qual? _____ Qual a frequência e duração? _____ Pratica esporte desde quando? _____		
3. AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA		
3.1 Peso atual (kg):	3.2 Peso habitual (kg):	
3.3 Altura (m):	3.4 IMC:	
3.5 Reactância (Xc):	3.6 Resistência (R):	
3.7 % água:	3.8 % gordura:	3.9 % massa magra:

Anexo 3: Tabelas de Desenvolvimento Puberal

Desenvolvimento Puberal Feminino Tabelas de Tanner

Mamas

Pêlos Pubianos

Desenvolvimento Puberal Masculino

Tabelas de Tanner

Genitália

Pêlos Pubianos