



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS  
NÚCLEO DE PESQUISAS EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
LABORATÓRIO DE IMUNOBIOLOGIA DA INFLAMAÇÃO



# **AVALIAÇÃO DE CITOCINAS PLASMÁTICAS ASSOCIADAS AO SOBREPESO E OBESIDADE EM MULHERES ADULTAS E IDOSAS**

**TATIANE DE LOURDES VALENTE**

Ouro Preto -MG

2015

TATIANE DE LOURDES VALENTE

**AVALIAÇÃO DE CITOCINAS PLASMÁTICAS  
ASSOCIADAS AO SOBREPESO E OBESIDADE EM  
MULHERES ADULTAS E IDOSAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de Concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica

Orientador: Prof. Dr. André Talvani

Ouro Preto -MG

2015

V154a Valente, Tatiane de Lourdes.  
Avaliação de citocinas plasmáticas associadas ao sobrepeso e obesidade em mulheres adultas e idosas [manuscrito] / Tatiane de Lourdes Valente. - 2016. 57f.: il.: color; grafs; tabs.

Orientador: Prof. Dr. André Talvani Pedrosa da Silva.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Departamento de Ciências Biológicas. Pós-Graduação em Ciências Biológicas.  
Área de Concentração: Bioquímica Metabólica e Fisiológica.

1. Obesidade. 2. Sobrepeso. 3. Biomarcadores inflamatórios. 4. Proteínas - Citocinas. I. Silva, André Talvani Pedrosa da. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU: 577.112:612.43



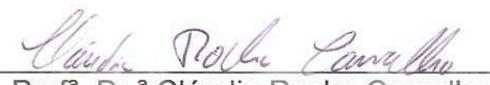
**Ata da Banca Examinadora de Defesa de Tese Intitulada:**

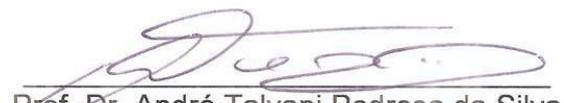
**“Avaliação de Citocinas Plasmáticas associadas ao sobrepeso e obesidade em mulheres adultas e idosas.”**

Aos trinta dias do mês de Novembro de 2015, às 9 horas e 30 minutos, no Auditório do CEAD da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Comissão Examinadora da Tese da aluna **Tatiane de Lourdes Valente**. A defesa da tese iniciou-se pela apresentação oral feita pela candidata e, em seguida, arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por ..... APROVAR ..... a candidata. A concessão do título está condicionada ao cumprimento das demais exigências previstas no Regimento deste Programa.

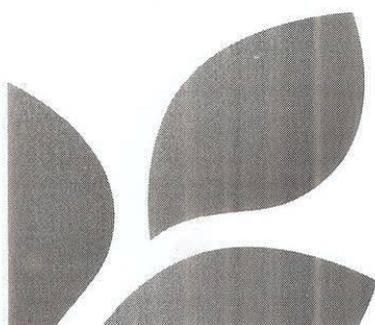
Membros da Banca Examinadora:

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniela Caldeira Costa  
Examinador (UFOP)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Cláudia Rocha Carvalho  
Examinadora (UFMG)

  
Prof. Dr. André Talvani Pedrosa da Silva  
Presidente (UFOP)

DATA DA DEFESA: 30/11/2015



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

NUPEB – ICEB II – sala 49 | Universidade Federal de Ouro Preto  
Campus Universitário Morro do Cruzeiro | CEP 35.400-000 – Ouro Preto – MG – Brasil  
Tel: 55 (31) 3559.1680 | E-mail: cbiol@nupeb.ufop.br | www.nupeb.ufop.br/cbiol

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais, meus irmãos e ao meu marido, por me apoiarem e incentivarem, sempre.

## **AGRADECIMENTO ESPECIAL**

Ao meu querido orientador Professor André Talvani, pelos ensinamentos, carinho, incentivo e exemplo de dedicação. Muito obrigada pela compreensão e por me aceitar em sua equipe.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus por jamais me desamparar e me proporcionar uma vida iluminada.

Aos meus pais, Virgínio e Isabel e aos meus irmãos Virgínio Jr. e Isabela, por sempre acreditarem em mim. Pelas orações, carinho e amor incondicional.

Ao meu marido Rodrigo por estar sempre ao meu lado, me incentivando. Por ser essa pessoa amorosa, paciente e compreensiva. Sem o seu apoio, tudo seria muito mais difícil.

À querida Élide, pelos momentos de desabafo e palavras sempre confortantes.

Às amigas Marianne, Bruna, Flávia e Andreza, por estarem sempre presentes.

À Laís Roquete e a Silvana Mara, pela amizade, carinho e pela disponibilidade em colaborar com a realização deste estudo que aconteceu graças a vocês.

À Ana Luisa, por ser tão prestativa, obrigada pela amizade.

A toda equipe do Laboratório de Imunobiologia da Inflamação, pelos bons momentos e companheirismo.

À Professora Marília Alfenas por todo carinho e ensinamentos.

Ao Professor Fernando pelo auxílio com as análises estatísticas.

À Professora Juliana de Assis S. G. Estanislau e sua equipe do Departamento de Morfologia da UFMF, especial ao Rafael T. Mattos pela colaboração.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

E à todos que de alguma forma colaboraram ou torceram para realização deste sonho.

Muito Obrigada.

## Resumo

A obesidade e o sobrepeso podem ser definidos como o acúmulo de gordura corporal provocado pelo desequilíbrio entre calorias ingeridas e calorias gastas, favorecendo o desenvolvimento de doenças crônicas, metabólicas e cardiovasculares. Sendo o tecido adiposo um órgão endócrino, secreta uma gama de proteínas produzidas e liberadas pelos adipócitos atuando no controle do apetite e equilíbrio energético, sensibilidade à insulina, inflamação, imunidade, resposta de fase aguda e metabolismo de lipídeos. Desta forma, este estudo objetiva identificar potenciais biomarcadores inflamatórios plasmáticos em mulheres adultas e idosas apresentando sobrepeso e obesidade correlacionando-os aos respectivos parâmetros antropométricos. Participantes do sexo feminino (n=109) foram agrupadas por idade cronológica (i) adultas: 18 a 50 anos e (ii) idosas: superior à 60 anos e, também, pela sua condição antropométrica (obesidade e sobrepeso). Realizou-se avaliação antropométrica (peso, altura, circunferências corporais e pregas cutâneas) e de biomarcadores inflamatórios plasmáticos (TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-8, IL-10, IL-6 e IL-1 $\beta$ ) por citometria de fluxo – método CBA. No grupo de mulheres adultas observou-se aumento do TNF- $\alpha$  associado ao quadro de sobrepeso e obesidade. No grupo de mulheres idosas, houve aumento de todos os biomarcadores associados a obesidade em relação ao grupo de eutróficas, e maior produção dos níveis de TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$  associado ao quadro de obesidade em relação ao quadro de sobrepeso. Observou-se, ainda, correlação positiva para biomarcadores avaliados em função do índice de massa corporal, do perímetro da cintura, do perímetro do quadril e da prega cutânea tricípital. Nossos dados mostram uma elevação nos marcadores inflamatórios associados ao ganho de peso, principalmente em mulheres idosas. Este estudo abre uma perspectiva de avaliação de potenciais marcadores inflamatórios envolvidos no prognóstico de comorbidades vinculadas à obesidade.

Palavras chave: obesidade, sobrepeso, biomarcadores inflamatórios, citocina.

## **Abstract**

Obesity and overweight can be defined as body fat accumulation caused by an imbalance between calories consumed and calories expended, favoring the development of chronic, metabolic and cardiovascular diseases. As adipose tissue an endocrine organ secretes a range of proteins produced and released by adipocytes acting in the control of appetite and energy balance, insulin sensitivity, inflammation, immune, acute phase response and lipid metabolism. Thus, this study aims to identify potential plasma inflammatory biomarkers in adult and elderly women presenting overweight and obesity correlating them to their anthropometric parameters. Female participants (n = 109) were grouped in chronological age (i) adult: 18 to 50 and (ii) older: higher than 60 years and also for their anthropometric status (obesity and overweight). It was performed anthropometric evaluation (weight, height, body circumferences, and skinfold thickness) and plasma inflammatory biomarkers (TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-8, IL-10, IL-6 and IL-1 $\beta$ ) through cytometric flow - CBA method. Among adult women group there was an increase of TNF- $\alpha$  associated with overweight and obesity clinical condition. In the group of elderly women there was an increased by all biomarker associated with obesity in relation to the eutrophic group, and increased production of TNF- $\alpha$ , IL-6 and IL-1 $\beta$  levels associated with obesity in relation to overweight. There was also a positive correlation for biomarkers evaluated in function of body mass index, waist circumference, the hip circumference and triceps skinfold. Our data show an increase in inflammatory markers associated with weight gain, especially in elderly women. This study opens a perspective of evaluating potential inflammatory markers involved in the prognosis of comorbidities related to obesity.

Key words: obesity, overweight, inflammatory biomarkers, cytokine.

## **Lista de abreviaturas**

a.C – Antes de Cristo

CBA - *Cytometric Bead Array*

ECG – Ecocardiograma

HDL – Lipoproteína de alta densidade

IFN- $\gamma$  - Interferón gama

IgE – Imunoglobulina E

IL-10 – Interleucina 10

IL-12 – Interleucina 12

IL-1 $\beta$  – Interleucina 1 beta

IL-6 – Interleucina 6

IL-8 – Interleucina 8

IMC – Índice de massa corporal

LDL – Lipoproteína de baixa densidade

NK - Células exterminadoras naturais

OMS – Organização Mundial da saúde

OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde

PC – Perímetro da cintura

PCT - Prega cutânea do tricipital

PE - Ficoeritrina

PGE2 – Prostaglandina E2

PMB – Perímetro muscular do braço

PQ – Perímetro do quadril

RCQ - Relação da cintura para o quadril

TCLE - Termo de consentimento esclarecido

TG – Triglicérides

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral – alfa

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> –	Prevalência de excesso de peso por sexo e região.....	<b>2</b>
<b>Tabela 2</b> –	Fatores causadores de obesidade apontados pela revisão de literatura..	<b>4</b>
<b>Tabela 3</b> –	Classificação para IMC, segundo OMS.....	<b>5</b>
<b>Tabela 4</b> –	Classificação do IMC para idosos segundo LIPSCHITZ.....	<b>6</b>
<b>Tabela 5</b> –	Classificação do IMC para idosos segundo OPAS.....	<b>6</b>
<b>Tabela 6</b> –	Biomarcadores inflamatórios e suas principais funções.....	<b>11</b>
<b>Tabela 7</b> –	Valores referenciais do perfil lipídico para adultos.....	<b>19</b>
<b>Tabela 8</b> –	Distribuição das participantes da pesquisa de acordo com o gênero e média dos valores antropométricos .....	<b>24</b>
<b>Tabela 9</b> –	Média dos valores bioquímicos de colesterol total e frações, triglicérides e glicemia. ....	<b>26</b>
<b>Tabela 10</b> –	Perfil dos biomarcadores inflamatórios em mulheres adultas e idosas, eutróficas, com sobrepeso e obesas.....	<b>43</b>
<b>Tabela 11</b> –	Correlação entre mediadores inflamatórios e parâmetros antropométricos em adultas e idosas.....	<b>44</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> –	Concentração plasmática do TNF- $\alpha$ em mulheres adultas e idosas.....	<b>28</b>
<b>Figura 2</b> –	Concentração plasmática da Interleucina-12 em mulheres adultas e idosas.....	<b>28</b>
<b>Figura 3</b> –	Concentração plasmática da Interleucina-6 em mulheres adultas e idosas.....	<b>29</b>
<b>Figura 4</b> –	Concentração plasmática da Interleucina-8 em mulheres adultas e idosas.....	<b>29</b>
<b>Figura 5</b> –	Concentração plasmática da Interleucina-1 $\beta$ em mulheres adultas e idosas.....	<b>30</b>
<b>Figura 6</b> –	Concentração plasmática da Interleucina-10 em mulheres adultas e idosas.....	<b>30</b>
<b>Figura 7</b> –	Correlações entre o parâmetro antropométrico índice de massa corporal (IMC) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas.....	<b>32</b>
<b>Figura 8</b> –	Correlações entre o parâmetro antropométrico perímetro da cintura (PC) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas.....	<b>33</b>
<b>Figura 9</b> –	Correlações entre o parâmetro antropométrico perímetro do quadril (PQ) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas.....	<b>34</b>
<b>Figura 10</b> –	Correlações entre o parâmetro antropométrico prega cutânea tricipital (PCT) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas.....	<b>35</b>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1 Obesidade .....	1
1.2 Tecido Adiposo e Inflamação .....	8
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
2.1 Objetivo Geral .....	15
2.3 Objetivos Específicos .....	15
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
3.1 População .....	16
3.2 Análise Antropométrica e Composição Corporal.....	17
3.3 Processamento e Análise dos Exames Bioquímicos.....	18
3.4 Avaliação do Padrão de Citocinas TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ e IL-10 em Amostras de Plasma.....	20
3.5 Comitê de Ética .....	21
3.6 Análise Estatística .....	22
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>23</b>
4.1 Avaliação Antropométrica e Classificação das Participantes.....	23
4.2 Avaliações Bioquímicas .....	25
4.3 Avaliações dos Biomarcadores Inflamatórios .....	27
4.4 Correlação entre Biomarcadores Inflamatórios e Parâmetros Antropométricos ....	31
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>6. SÍNTESE DOS RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	<b>45</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>46</b>
<b>9. ANEXO</b> .....	<b>57</b>

## INTRODUÇÃO

### 1.1. Obesidade

Obesidade, derivada do latim *obesus*, passado do particípio de *obedere*, que significa “comer demais” (LEV-RAN, 2000). Reconhecida como doença desde 1985 (PRADO, 2009), a obesidade é uma doença crônica, indicada pela OMS como um dos maiores problemas de saúde pública do mundo (WHO, 2015). Isso porque esse estado corpóreo favorece o desenvolvimento de comorbidades no ser humano, ressaltando-se as doenças crônicas como diabetes, hipertensão, hiperlipidemia, doenças cardiovasculares, câncer, entre outros (MOREIRA, 2014). Ademais, indivíduos com o excesso de peso apresentam-se mais susceptíveis a desenvolver desordens psicológicas como transtornos de imagem corporal, ansiedade e depressão (BARBIERI, 2012). Indivíduos obesos revelam-se mais improdutivos, apresentam um custo maior em 40% com sistemas de saúde e um consumo medicamentoso aumentado em 105%, quando comparados à indivíduos eutróficos. Em decorrência de todas essas associações ao excesso de peso, a obesidade apresenta um elevado impacto financeiro para sistema único de saúde. (BAHIA, LR, 2014).

Segundo Instituto Global Mckinsey a obesidade é responsável por cerca de 5% de todas as mortes por ano no mundo , e seu impacto anual econômico global é de cerca de dois trilhões de dólares, que representa 2,8% do PIB mundial (MCKINSEY, 2014). Enes e Slater mostraram que os cálculos com tratamento da obesidade em países industrializados giravam de 2% a 8% do gasto global com a saúde (ENES e SLATER, 2010). Desde a década de 80 os números da obesidade duplicaram mundialmente. No ano de 2014 aproximadamente 2 bilhões de pessoas, com idade superior à 18 anos, apresentavam excesso de peso, destes, mais de 600 milhões encontravam-se obesos (WHO, 2015). De acordo com o relatório de doenças crônicas da China, de 2004 a 2010 houve um crescimento entre o número de pessoas acima do peso com idade entre 18 e 69 anos, sendo que em 2010, este percentual representava 31% da população. Já nos Estados Unidos, a obesidade é uma preocupação desde a década de 1980. Estudo realizado no período de 2009 a 2010 aponta que mais de um terço da população adulta americana, encontra-se acima do peso. Estima-se que os custos médicos anuais com

essa população, ultrapasse 145 bilhões de dólares (BAHIA, 2014). No período de 1981 a 2009, o Canadá apresentou um crescimento de mais de 50% na obesidade entre os jovens e os adultos, o percentual de obesos varia de 24,3% a 25,4% da população (CIHI, 2011). Em 2003, de acordo com o primeiro levantamento sobre os custos da obesidade, o gasto anual do Brasil superava 1 bilhão de reais com consultas, medicamentos e internações para intervenções relacionadas ao excesso de peso e doenças vinculadas (ENES e SLATER, 2010).

A Tabela 1 apresenta dados de prevalência de excesso de peso no mundo, nas Américas e no Brasil.

**Tabela 1** – Prevalência de excesso de peso por sexo e região, 2010-2014, IMC > 25.

<b>Região – OMS</b>	<b>Ano</b>	<b>Idade</b>	<b>Ambos os sexos</b>	<b>Feminino</b>	<b>Masculino</b>
<b>Global</b>	<b>2014</b>	<b>&gt; 18 anos</b>	39 [37.3-40.7]	39.6 [37.2-42.1]	38.5 [36.1-41.2]
	<b>2010</b>	<b>&gt; 18 anos</b>	36.6 [35.3-37.8]	37.3 [35.6-39.1]	35.9 [34.1-37.8]
<b>Américas</b>	<b>2014</b>	<b>&gt; 18 anos</b>	61.3 [58.7-63.8]	59.8 [56.3-63.4]	62.8 [59.3-66.2]
	<b>2010</b>	<b>&gt; 18 anos</b>	59 [57.1-60.9]	57.8 [55.2-60.4]	60.3 [57.7-63]
<b>Brasil</b>	<b>2014</b>	<b>&gt; 18 anos</b>	54.1 [48.7-59.3]	52.8 [45.7-59.8]	55.6 [48.2-62.8]
	<b>2010</b>	<b>&gt; 18 anos</b>	51.1 [47.2-55.1]	50.3 [45-55.7]	51.9 [46.4-57.5]

Adaptado da WHO, 2015.

No Brasil, a pesquisa VIGITEL (2014) aponta crescimento no número de pessoas com excesso de peso, sendo que 52,5% da população nacional encontra-se neste grupo. Dentre a população do sexo feminino 49,1% apresentam-se com excesso de peso e 18,2% obesidade, já no sexo masculino a prevalência é de 56,5% e 17,5%, respectivamente (ABESO, 2015).

Dados da Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais (SES-MG) mostram que na população estadual, 51% dos adultos apresentam sobrepeso e 12% obesidade. Nos 39 municípios participantes da Superintendência Regional de Saúde Belo Horizonte, que representam quase um quarto da população do estado, seriam mais de três milhões de habitantes com sobrepeso e cerca de 700 mil obesos (SAÚDE, 2015).

Por milhares de anos nossos ancestrais, que eram nômades, se alimentavam de vegetais e carnes que encontravam no decorrer de suas caminhadas. Até que, resolveram se instalar às margens de rios e lagos e cultivar seu próprio alimento, por meio do plantio e da criação de animais. Há indícios, após o terceiro milênio a.C, nas tumbas do Antigo Egito, da grande variedade de alimentos que já fazia parte do cotidiano dos faraós, como massas, carnes, laticínios, cereais, condimentos, especiarias, mel e outros. Nos séculos XV e XVI, com as grandes navegações, iniciou-se a “mundialização” dos alimentos, onde novos sabores foram conhecidos e levados de um continente a outro. Com a Revolução Industrial, a agricultura que se mantinha como subsistência, passa a contar com o auxílio de máquinas em seu cultivo, evoluindo até o desenvolvimento do primeiro enlatado em 1810 na França, com intuito de atender as necessidades militares (SAÚDE, 2015).

Rapidamente, os enlatados tornaram-se produtos de uso comum, chegando às prateleiras de supermercados, dando início à era de alimentos industrializados que atingiria famílias de todo mundo. E no Brasil não foi diferente, com o passar dos anos a estabilização da economia, favoreceu crescimento do mercado consumidor. A população com maior poder aquisitivo quis inserir em seu cotidiano alimentos mais requintados, ou seja, alimentos industrializados, que tornaram-se acessíveis até àqueles com menor faturamento (AQUINO, e PHILIPPI, 2002).

### **Etiologia da obesidade**

A obesidade e o sobrepeso podem ser definidos como o acúmulo de gordura corporal provocado pelo desequilíbrio entre calorias ingeridas e calorias gastas, levando a um balanço energético positivo (WHO, 2015). Associada à redução da qualidade e expectativa de vida, a obesidade é uma doença crônica de etiologia multifatorial, e pode apresentar como origem o estilo de vida, fatores ambientais, genéticos e psicológicos que se inter-relacionam e se intensificam reciprocamente (ENES e SLATER, 2010).

A disparidade entre a atividade física e o consumo alimentar são, reconhecidamente, os fatores ambientais mais fortes que auxiliam no ganho de peso (Projeto Diretrizes, 2005). Calcula-se que fatores genéticos representem de 24 a 40% por

determinarem desproporção entre elementos como a taxa metabólica basal, resposta ao excesso de alimentação e outros (BOUCHARD 1994; PRICE 2002). Alguns trabalhos sugerem que a analogia entre sobrepeso familiar é alta e pode relacionar-se com a participação da hereditariedade e a exposição aos mesmos fatores ambientais (BARBIERI *et al*, 2012). Outro provável coadjuvante na etiologia da obesidade é a teoria da economia energética que, em situações de adversidades biológicas e sociais, onde há deficiência de energia, mobiliza-se uma sequência de processos metabólicos adaptativos com intuito de reduzir o gasto energético como tática de sobrevivência. Esse ajuste conduz o organismo a uma adaptação onde o consumo e gasto energéticos são menores do que o habitual. Porém, esta nova compensação é sensível, e um crescimento na ingestão alimentar poderá promover um aumento do peso, graças à efetividade metabólica alcançada (WANDERLEY *et al*, 2010). Distúrbios endócrinos como o insuficiência fisiológica da glândula tireóide e distúrbios hipotalâmicos, alterações no metabolismo de corticosteróides, ovariectomia, síndrome de Cushing e síndrome dos ovários policísticos, podem ainda conduzir para o excesso de peso (FRANCISCHI *et al*, 2000).

BARBIERI *et al*, 2012 reuniram os principais fatores associados à obesidade, embasados na revisão realizada, conforme tabela 2.

**Tabela 2.** Os fatores causadores de obesidade apontados pela revisão de literatura

<b>Fatores causadores de obesidade</b>	<b>75 artigos</b>
Sedentarismo e alimentação inadequada	82,66 %
Fatores Genéticos	30,6%
Nível sócio-econômico	30,6%
Fatores psicológicos	21,3%
Fatores demográficos	16%
Nível de escolaridade	5%
Desmame precoce	5%
Pais obesos	3%
Estresse	2%
Fumo/Álcool	1%

Fonte: BARBIERI *et al*, 2012.

## Indicadores da Obesidade

Para diagnóstico da obesidade são necessárias algumas técnicas de quantificação da prática clínica que podem ser, medida da prega cutânea, ultrassonografia, análise de bioimpedância, espectroscopia por raios infravermelhos, sendo o mais usual o índice de massa corporal (IMC), **tabela 3**, utilizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para classificar a obesidade e também o risco de mortalidade a ela associada (ABESO, 2010).

**Tabela 3 .** Classificação para IMC

<b>CLASSIFICAÇÃO</b>	<b>IMC</b>
Magreza grau III	$< 16 \text{ Kg/m}^2$
Magreza grau II	16 a 16,9 $\text{Kg/m}^2$
Magreza grau I	$< 17$ a 18,4 $\text{Kg/m}^2$
Normal	18,5 a 24,9 $\text{Kg/m}^2$
Sobrepeso	25 a 29,9 $\text{Kg/m}^2$
Obesidade grau I	30 a 34,9 $\text{Kg/m}^2$
Obesidade grau II	35 a 39,9 $\text{Kg/m}^2$
Obesidade grau III	$\geq 40 \text{ Kg/m}^2$

Fonte: OMS (1998)

Dentro da antropometria, o IMC é o parâmetro antropométrico mais difundido, sendo um bom indicador, porém, apresenta algumas limitações como: não diferenciar massa gordurosa de massa magra, não apresentar a distribuição da gordura corporal – a gordura intra-abdominal, visceral, que é um importante fator de risco para desenvolvimento de doenças, dentre outros. Desta forma sugere-se que seu uso não seja isolado e sim combinado com a realização de outras medidas de gordura corporal (ABESO, 2010).

Para idosos, a literatura é carente em valores de referência para o IMC, sugerindo-se que sejam utilizados valores de normalidade maiores do que para os adultos (FONSECA, 2013). A proposta mais aplicada é a de Lipschitz (**tabela 4**), que considera as

alterações de composição corporal associadas ao envelhecimento (CERVI, 2005). Outra classificação utilizada para idosos é a da Organização Pan-Americana de Saúde – (OPAS) que estudou países da América Latina, como o Brasil, **tabela 5** (RAUEN *et al.*, 2008).

**Tabela 4:** Classificação do IMC para idosos segundo LIPSCHITZ

CLASSIFICAÇÃO	IMC
Desnutrição	< 22 kg/m <sup>2</sup>
Risco nutricional	22-24 kg/m <sup>2</sup>
Normal	24-27 kg/m <sup>2</sup>
Sobrepeso	
<i>Mulheres</i>	27-32 kg/m <sup>2</sup>
Obesidade	
<i>Mulheres</i>	> 32 kg/m <sup>2</sup>

Fonte: Adaptado LIPSCHITZ (1994)

**Tabela 5:** Classificação do IMC para idosos segundo a OPAS

IMC	CLASSIFICAÇÃO
>23	Baixo peso
23 < IMC < 28	Peso normal
≥ 28 e < 30	Sobrepeso
≥30	Obesidade

Fonte: OPAS (2002 )

A gordura subcutânea corresponde à metade da gordura armazenada do corpo, sendo um dos componentes mais estudados no que diz respeito à composição corporal (ACUNA, 2004). A medição da espessura das pregas cutâneas relaciona-se com os depósitos

de gordura posicionados abaixo da derme, uma prática com baixo custo, simples, não invasiva e muito utilizada na clínica (ABESO, 2010). Gonçalves e Mourão sugerem que a massa adiposa subcutânea, analisada em 12 áreas corporais pelo método das pregas adiposas, corresponde ao valor obtido nas imagens de ressonância magnética (GONÇALVES E MOURÃO, 2007). O valor isolado da prega cutânea tricípital fornece um valor aproximado das reservas gordurosas, relacionando-se com o volume de gordura do organismo (CASTRO *et al*, 2008). Assim como o perímetro muscular do braço (PMB), a prega cutânea tricípital (PCT) deve ser um indicador antropométrico adotado para idosos, visto que possuem dados de referência apresentados pelo *Third National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) (SAMPAIO, 2004).

A distribuição do tecido adiposo está diretamente relacionada a seu tipo de ação. A obesidade do tipo androide, caracterizada pelo excesso de gordura na região abdominal, é responsável pelo maior número de complicações metabólicas quando comparada a ginóide, onde ocorre acúmulo de gordura nos quadris (OLIVEIRA e ALMEIDA, 2012). Sendo assim, as medidas das circunferências da cintura e abdominal, propostas como importantes indicadores de gordura visceral. Os valores de circunferência abdominal estabelecidos pela OMS como ponto de corte para risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares são iguais ou superiores a 94 e 80 cm em homens e mulheres, respectivamente (ABESO, 2010).

A relação circunferência abdominal/quadril (RCQ), anteriormente a medida mais utilizada para obesidade central, é hoje considerada pela OMS como um dos parâmetros que caracterizam a síndrome metabólica, com valores de corte de 0,90 para homens e 0,85 para mulheres (ABESO, 2010).

Indicadores antropométricos são fundamentais para avaliação de idosos, no entanto algumas mudanças características do envelhecimento podem influenciar o diagnóstico antropométrico e diminuir a efetividade da conduta a ser aplicada. Na senescência ocorre uma diminuição da água corporal, da altura, da massa magra e um aumento do tecido adiposo, principalmente na região abdominal, graças a uma redução do nível de atividade física assim como uma queda da taxa do metabolismo basal (CERVI, 2005). No que diz respeito à diminuição da altura com a idade, estudos apontam uma redução de 1 a 4 centímetros por década. Declínio este observado a partir dos 40 anos de idade. As causas para essa redução da estatura são diversas, podendo estar vinculadas à redução dos discos intervertebrais,

achatamento das vértebras, arqueamento dos membros, cifose dorsal, escoliose e achatamento do arco plantar (SAMPAIO, 2004; BORBA *et al*, 2007).

## **1.2. Tecido Adiposo e Inflamação**

Um dos pontos centrais do estudo em obesidade é o tecido adiposo, a principal fonte energética do organismo. Apresenta-se disseminado em pequenos reservatórios que não possuem ligação física entre si e por meio de suas exclusivas células adipócitas, realiza a síntese de ácidos graxos (lipogênese), o armazenamento de lipídios na forma de triacilglicerol em épocas onde a disponibilidade energética é farta, e a mobilização por meio da lipólise em condições de déficit calórico, sem causar danos à sua plenitude funcional (ALANIZ, *et al*, 2006). Esse aspecto revelou-se a partir de uma transformação no entendimento da sua função biológica desde os últimos anos e as diferentes respostas aos diversos tratamentos podem estar relacionadas com as características celulares desse tecido (PRADO *et al.*, 2009).

Recentemente o tecido adiposo passou a ser conceituado como um órgão endócrino envolvido no metabolismo, relacionando-se com órgãos e sistemas do corpo e caracterizando a obesidade como um estado inflamatório de baixo grau, graças sua capacidade de secreção de uma gama de proteínas produzidas e liberadas pelos adipócitos, designadas adipocinas (GOMES *et al.*, 2010; PINTO, 2014; ZAGO *et al.*, 2013). Estas adipocinas possuem funções diversas, como o controle do apetite e equilíbrio energético, sensibilidade à insulina, inflamação, imunidade, resposta de fase aguda e metabolismo de lipídeos (SILVEIRA, 2009; MATOS *et al.*, 2014; ZAGO *et al.*, 2013). Por meio de seus efeitos no sistema nervoso e cardiovascular, em 1994 a revelação de um hormônio específico do adipócito, leptina (PRADO, 2009), por exemplo, elucidou a participação do tecido adiposo no controle energético e do apetite (BARROSO *et al*, 2002), um grande avanço na descoberta do tecido adiposo como órgão secretor (PRADO, 2009).

## **Biomarcadores Inflamatórios na Obesidade**

O termo "biomarcador", deriva da expressão "marcador biológico" e refere-se a sinais clínicos, ou seja, indicações objetivas do estado observado no indivíduo que podem ser medidas com precisão e reprodutibilidade, incluem desde o pulso e pressão arterial a produtos celulares. Refletem uma interação entre um sistema biológico e um perigo potencial. A resposta medida poderá ser funcional, fisiológica, ou bioquímica (STRIMBU e TRAVEL, 2011). Um exemplo comum de marcador inflamatório são as citocinas.

Citocinas são proteínas de sinalização celular secretadas por diversos tipos de células, atuam por mecanismo autócrino e parácrino, em vários tipos celulares. As citocinas podem apresentar redundância (várias citocinas exercendo a mesma função), sinergismo (diversas citocinas atuando em conjunto com a mesma finalidade), antagonismo (ação de uma citocina anula outras) e pleiotropia (uma mesma citocina agindo em distintas células). Podem atuar umas sobre as outras regulando a produção e atividade, aumentando ou diminuindo a resposta inflamatória, designadas pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, respectivamente (OLIVEIRA et al, 2011). Quando ocorre um aumento de tecido adiposo a produção destas também aumenta, visto que os tecidos adiposo subcutâneo e visceral podem ser apontados como fontes fundamentais de citocinas (CARVALHO, 2006). Macrófagos podem ser indicados como a principal fonte dessas citocinas presentes no tecido adiposo. Estudos mostraram uma alta concentração de macrófagos neste tecido em animais obesos, quando comparados àqueles que não apresentaram obesidade. (HOTAMISLIGIL *et al.*, 2006).

Em 1993, revelou-se que em animais obesos a expressão da citocina pró-inflamatória TNF- $\alpha$ , estava aumentada, associando sua expressão aos adipócitos. Neste mesmo estudo, ao neutralizar a expressão do TNF- $\alpha$ , demonstrou-se uma redução da resistência insulínica nos animais (CARVALHO, 2006).

Pode-se destacar dentre as adipocinas secretadas pelo tecido adiposo o TNF- $\alpha$  e as interleucinas 1 $\beta$ , 6 e 8 (IL-1 $\beta$ , 6 e 8) dentre outras. Estas, apresentam um aumento da produção e secreção associados à obesidade e relacionam-se diretamente à indução da resistência insulínica, aterogênese, hipertensão, intensificação, promovendo aumento de riscos cardiovasculares e acidentes tromboembólicos (QUEIROZ *et al.*, 2009).

Durante o processo de envelhecimento, o sistema imune sofre continuamente diversas alterações que podem comprometer sua funcionalidade. A obesidade, caracterizada

pelo seu baixo grau de inflamação, pode ser responsável por maximizar os efeitos nocivos da idade em indivíduos idosos ou induzir danos equivalentes em adultos. Em decorrência dessas alterações que ocorrem com a obesidade e ou o envelhecimento, torna-se importante identificar novos biomarcadores com potencial capacidade de utilização em diagnóstico, prognóstico e acompanhamento da obesidade e de outras doenças metabólicas. Nesse sentido, a proposta do presente estudo é avaliar a produção de biomarcadores inflamatórios já descritos na literatura por seu envolvimento na obesidade ou outros com indícios biológicos para associação com a obesidade (Tabela 6) em adultos e idosos.

**Tabela 6 - Biomarcadores inflamatórios e suas principais funções**

<b>Mediadores</b>	<b>Células produtoras</b>	<b>Função/Efeito</b>	<b>Referências</b>
TNF- $\alpha$	Macrófagos ativados, linfócitos	Mediador de respostas inflamatórias, influencia apoptose, estimula a proliferação de linfócitos-T, fibroblastos e células exterminadoras naturais. Indutor de metabolismo muscular e caquexia, por estimular a lipólise e inibir a lipoproteína lipase.	OLIVEIRA <i>et al</i> , 2011.
	Monócitos, células NK,	Ativa a coagulação, estimula a expressão ou liberação de moléculas de adesão, PGE2, fator ativador de plaquetas, glicocorticoides e eicosanoides.	GEHRKE e PEREIRA, 2007.
	Macrófagos e linfócitos	Envolvido na fisiopatologia da resistência à insulina	HOTAMISLIGIL, <i>et al.</i> , 1993
IL-12	Macrófagos ativados	Estimula células NK. Aumenta a síntese de IFN-g em linfócitos periféricos. Está envolvida na seleção do isotipo de imunoglobulinas, inibindo a síntese de IgE.	VARRELA e FORTE,
	Macrófagos e células dendríticas	Induz a transcrição e secreção de outras citocinas, principalmente interferon-gama; Aumenta da citotoxicidade das células NK; Induz a proliferação das células NK..	HUNTER, 2005

IL-6	<p>Monócitos, células do tipo B e T.</p> <p>Eosinófilos, células endoteliais, fibroblasto, adipócito</p> <p>Macrófagos, monócitos, eosinófilos, hepatócitos e da glia, sendo TNF- <math>\alpha</math> e IL-1 potentes indutores</p>	<p>Estimula a produção do hormônio adrenocorticotrófico pela hipófise, estabelecendo um ‘feedback negativo’ entre o sistema imune e o eixo neuroendócrino.</p> <p>Controla a produção hepática de proteínas inflamatórias como a proteína C reativa.</p> <p>Causa febre e ativa o eixo hipotálamo-hipofisário-adrenal</p>	<p>WARRELLAL e FORTE,2001.</p> <p>GUIMARÃES <i>et al.</i>, 2007</p> <p>OLIVEIRA <i>et al</i>, 2011.</p>
IL-8	<p>Monócitos/macrófagos, fibroblastos, células endoteliais, queratinócitos, melanócitos, hepatócitos e condrócitos.</p>	<p>Estímulo migratório para as células do sistema imune, principalmente neutrófilos, determinando ainda um aumento da expressão de moléculas de adesão por células endoteliais</p>	<p>WARRELLAL e FORTE,2001.</p>
IL-1 $\beta$	<p>Monócitos, células epiteliais, células</p>	<p>Atua no hipotálamo, exercendo a função de pirógeno endógeno; aumenta a atividade de osteoclastos e adipócitos, sendo grande</p>	<p>WARRELLAL e FORTE, 2001</p>

	<p>endoteliais, linfócitos, macrófagos Monócitos, macrófagos, células epiteliais, endoteliais e células da glia</p>	<p>responsável pelo emagrecimento e tendência a fraturas de pacientes com processos infecciosos crônicos</p> <p>Mediador da resposta inflamatória</p>	<p>TOCCI e SCHIMIDT, 1997</p>
<p>IL-10</p>	<p>Monócitos, macrófagos</p> <p>Células CD8+ ativadas. Células Th0, Th1, Th2 ativadas, linfócitos B, mastócitos e monócitos ativados por LPS</p>	<p>Indução da febre, resposta inflamatória no fígado, proliferação de fibroblastos, produção de anticorpos e citocinas, angiogênese, metástase, produção de proteínas de fase aguda por meio da estimulação dos hepatócitos e estímulo da hematopoese.</p> <p>Inibe a síntese do IFN-g, IL-2, IL-12, TNF-β e a proliferação de células Th1. Atua como um co-estimulador para a proliferação de mastócitos e seus progenitores. É ainda co-estimulador no crescimento dos timócitos imaturos, agindo como fator de diferenciação para as células T citotóxicas, sendo esta ação de menor intensidade.</p>	<p>FUNGHETTO, 2014</p> <p>WARRELLAL e FORTE,2001.</p>

Células imunológicas,tecidos neuroendócrino e neural	Inibe as citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF, IL-1 e IL-6	OLIVEIRA <i>et al</i> , 2011.
Macrófagos e leucócitos	Regulação do sistema imune, inibindo significativamente a expressão e/ou síntese de citocinas ou adipocinas pró- inflamatórias por meio de contrarregulação negativa.	ARSLAN e ERDUR, 2010.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Quantificar a produção de citocinas plasmáticas correlacionando-as aos parâmetros antropométricos em mulheres adultas e idosas apresentando sobrepeso e obesidade.

### **2.2 Objetivos específicos:**

- I. Avaliação da composição corporal de mulheres adultas e idosas apresentando sobrepeso e obesidade por antropometria (peso, altura, circunferências e pregas cutâneas);
- II. Avaliar os parâmetros bioquímicos colesterol, LDL, VLDL, HDL e glicemia em jejum em adultos e idosos apresentando sobrepeso e obesidade;
- III. Avaliar a produção plasmática dos marcadores TNF, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 e IL-12 pelo método de citometria de fluxo (CBA) ;
- IV. Correlacionar parâmetros antropométricos com as citocinas plasmáticas avaliadas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 População

A pesquisa foi composta por 109 participantes, da Universidade Federal de Ouro Preto e do Programa de Gerenciamento de Doenças, do setor de Promoção da Saúde da Unimed Inconfidentes Ouro Preto. Estas foram agrupadas por idade (adulto: de 18 a 50 anos e idosos: idade superior à 60 anos) e condição clínica (obesidade e sobrepeso).

Todas as participantes foram compiladas de acordo com a faixa etária, sendo a classificação realizada de acordo com o IMC, utilizando a classificação da OPAS (2002) para as idosas e da OMS (1998) para as adultas, sem que tivessem conhecimento dessa classificação em:

70 adultas (18 a 50 anos):	[ - 31 eutróficas (IMC: $18,5\text{kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 24,99 \text{ kg/m}^2$ ) - 28 com indicativo de sobrepeso ( $25 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 29,99 \text{ kg/m}^2$ ) - 11 com indicativo de obesidade ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) ]
59 idosas (acima de 60 anos):	[ - 16 eutróficas ( $23 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 28 \text{ kg/m}^2$ ) - 9 com indicativo de sobrepeso ( $28 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 30 \text{ kg/m}^2$ ) - 14 com indicativo de obesidade ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) ]

Apresentou-se um termo de consentimento esclarecido (TCLE), sendo a coleta de dados realizada apenas após esclarecimento sobre a proposta do trabalho.

Foram considerados critérios de inclusão: (I) apresentar idades entre 18 anos e 50 anos ou superior a 60 anos; (II) apresentar sobrepeso (IMC acima de  $\geq 25$  para adultos e  $\geq 28$  para idosas) ou condição de eutrofia, (IV) aceitar participar da pesquisa de forma voluntária e, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

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

### **3.2. Análise antropométrica e composição corporal**

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

Devido às restrições para a antropometria do idoso, foram utilizados neste trabalho os valores para avaliação da composição de gordura corporal comuns às duas faixas etárias estudadas, assim como os específicos para risco cardiovascular, como: altura, peso, índice de massa corporal (IMC), prega cutânea tricípital (PCT), perímetro da cintura (PC), perímetro do quadril (PQ) e relação cintura/quadril (RCQ). De forma simplificada, segue a estratégia de abordagem para cada um dos parâmetros avaliados:

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

(III) Índice de Massa Corporal: O IMC foi obtido dividindo-se o peso pela altura em metros (m<sup>2</sup>). IMC: Peso (kg) / Altura (m)<sup>2</sup>

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

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

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

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

### **3.3. Processamento e análise dos exames bioquímicos**

As amostras de sangue venoso foram obtidas com o indivíduo em jejum de 12 a 14 horas e sob orientação para evitar ingestão de álcool nas 72 horas que antecederam a coleta, assim como evitar a atividade física extenuante no dia anterior. A coleta foi realizada por um profissional farmacêutico e as amostras foram coletadas em tubos contendo heparina e tubos sem anticoagulante, conforme a indicação do método. Após a coleta estas foram acondicionadas em gelo e transportadas imediatamente para Laboratório Piloto de Análises Clínicas - Escola de Farmácia- Universidade Federal de Ouro Preto (LAPC).

Foram avaliados no soro o perfil lipídico (colesterol total, triglicérides, HDL-c e LDL-c) e glicose, utilizando conjuntos diagnósticos *Human* do Brasil. A

determinação do colesterol total (CT), HDL-c e triglicérides (TG) foi realizada através da metodologia enzimática colorimétrica. A dosagem de triglicérides foi realizada a partir de uma série de reações enzimáticas de hidrólise e oxidação, para a formação de peróxido de hidrogênio que, sob a influência catalítica da peroxidase, gera o composto quinoneimina, um indicador colorimétrico medido fotometricamente, cuja cor é proporcional a concentração do componente lipídico de interesse.

Na dosagem de HDL-c foi realizada utilizando o método homogêneo direto, em que o colesterol HDL transforma-se em colesteno e peróxido de hidrogênio por ação enzimática, na presença de surfactantes específicos. O peróxido de hidrogênio formado reage com um cromógeno, sob ação catalítica da peroxidase, gerando o corante quinona, cuja absorvância é diretamente proporcional à concentração do HDL-c na amostra. O colesterol LDL foi quantificado usando-se a equação de Friedewald, descrita a seguir:  $LDLC = CT - (VLDLC + HDLC)$ , sendo que  $VLDLC = TG/5$ .

O perfil lipídico dos participantes do estudo foi avaliado segundo os valores de referência estabelecidos na V Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias, 2013 (Tabela 7).

**Tabela 7: Valores referenciais do perfil lipídico para adultos**

LÍPIDES	VALORES	CATEGORIA
CT	< 200	Desejável
	200-239	Limítrofe
	≥ 240	Alto
LDL-c	< 100	Ótimo
	100-129	Desejável
	130-159	Limítrofe
	160-189	Alto
HDL-c	≥ 190	Muito alto
	> 60	Desejável
	< 40	Baixo
TG	< 150	Desejável
	150-200	Limítrofe
	201-499	Alto
	≥ 500	Muito alto
Colesterol não-HDL	< 130	Ótimo
	130-159	Desejável
	160-189	Alto
	≥ 190	Muito alto

Fonte: XAVIER *et al*, 2013.

O método empregado para determinação da glicose foi o método cinético, o qual é baseado na reação de oxidação da glicose e posteriormente na reação de acoplamento de um dos produtos formados, levando à formação de um composto corado (antipirilquinonimina), cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose na amostra. Para avaliar o perfil glicêmico dos participantes, foram utilizados os critérios de glicemia plasmática de jejum (GPJ) propostos pela *American Diabetes Association* (ADA, 2004). São eles: <100 mg/dl normal; de 100 a 125 mg/dl glicemia de jejum alterada (GJA) e  $\geq 126$  mg/dl diabetes mellitus.

#### **3.4. Avaliação do padrão de citocinas TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-10, IL-6, IL-8 e IL-1 $\beta$ em amostras de plasma**

As citocinas foram quantificadas utilizando-se o sistema citofluorométrico com microesferas fluorescentes (*Cytometric Bead Array-CBA, Becton Dickinson-BD*), que emprega uma mistura de esferas de poliestireno, de intensidades de fluorescência discretas e distintas, recobertas com anticorpos específicos para as citocinas humanas. Essa metodologia (CHEN et al., 1999) permite a avaliação simultânea de diversas moléculas solúveis no mesmo ensaio, empregando pequenos volumes de amostra. Não foi necessário diluir as amostras para a leitura no citômetro de fluxo.

Para a reação, 25  $\mu$ L da mistura de esferas de captura, marcadas com anticorpos monoclonais específicos para cada citocina estudada, foram transferidos para tubos de 12x75 mm destinados ao controle negativo e às amostras a serem testadas. Em seguida, 25  $\mu$ L do diluente G e das amostras a serem testadas foram adicionados aos seus respectivos tubos. Posteriormente, foram adicionados 18  $\mu$ L do coquetel de anticorpos monoclonais humanos marcados com PE (*Human Inflammation PE Detection Reagent*). Os tubos foram incubados por três horas, à temperatura ambiente (TA) e ao abrigo da luz. Após a incubação, as esferas de captura foram lavadas com 500  $\mu$ L da solução tampão fosfato salínico (PBS) e centrifugadas a 1.300 rotações por minuto (rpm) por sete minutos a 18°C. Cuidadosamente o sobrenadante foi aspirado e descartado, restando-se aproximadamente 100  $\mu$ L em cada tubo. As amostras foram encaminhadas para leitura no citômetro de fluxo.

Para aquisição dos dados das amostras, o aparelho foi ajustado utilizando-se o *BD FACSComp Software* e o *BD CalibrateBeads*. O objetivo do ajuste do aparelho consistiu em definir os parâmetros de tamanho (FSC) e granulosidade (SSC) adequados para o posicionamento das esferas de captura em gráficos de tamanho versus granulosidade. Após a seleção das esferas, procedeu-se ao ajuste da intensidade da FL3, para permitir a segregação das esferas policromáticas, apresentando diferentes intensidades de fluorescência, em histogramas unidimensionais. Para cada tubo processado foram adquiridos 1.800 eventos na região selecionada R1, que equivale a 300 eventos por citocina testada.

Após leitura, foi analisado o perfil de citocinas seguindo-se o protocolo proposto pelo fabricante por meio da utilização do *BD CBA Analyses Software* com o auxílio do Microsoft Excel, modificado como descrito a seguir. O programa *BD CBA Analysis Software* faz a seleção automática da região das esferas de captura em gráficos de tamanho versus granulosidade. Em seguida, separa as esferas em função da intensidade da FL3 e analisa o deslocamento das esferas em função da intensidade da FL2 em gráficos bidimensionais de FL2 versus FL3. A ligação da citocina presente na amostra de interesse à esfera de captura e a revelação da ligação a partir do uso de um coquetel de anticorpos monoclonais anticitocinas humanas marcadas com PE podem ser evidenciadas pelo deslocamento do conjunto de esferas para a região de mais intensidade de FL em relação ao tubo-controle negativo, sem plasma humano. Os valores correspondentes à intensidade média de fluorescência FL2 na escala logarítmica foram utilizados como a unidade de análise semiquantitativa para cada citocina avaliada e os valores expressos em intensidade média de fluorescência (MIF).

### **3.5. Comitê de ética**

O projeto em questão foi aprovado pelo Comitê de ética da Universidade Federal de Ouro Preto, parecer CAAE: 07639512.0.0000.5150 (anexo). A presente pesquisa consistiu em avaliação de dados secundários do seguimento do projeto realizado pela Doutoranda Silvana Mara e da mestranda Laís Roquete Lopes, do Laboratório de Imunobiologia da Infamação, aprovado no mesmo parecer do comitê de ética e do qual tive a oportunidade de acompanhar a coleta de dados antropométricos.

### 3.6. Análise estatística

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

Os resultados são apresentados, para cada grupo avaliado, por técnicas de estatística descritiva como média aritmética e desvio padrão. Para as análises comparativas das médias destes grupos avaliados, utilizou-se a Análise de Variância *one-way* (ANOVA) (Montgomery, 2012). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de *Tukey*. Avaliou-se também que não há nenhuma violação quanto à normalidade, homocedasticidade e independência dos resíduos, indicando a validade do modelo experimental proposto, bem como dos resultados e conclusões obtidos a partir deste modelo. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%. Todas as análises foram feitas através dos programas *INSTAT*, *GraphPad Prism 6*.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Avaliação antropométrica e classificação das participantes

A amostra total de voluntárias que participaram deste estudo foi de 109 participantes, do sexo feminino, compiladas por idade (adulto: de 18 a 50 anos e idosos: idade superior a 60 anos) e composição corporal (obesidade e sobrepeso). A tabela 8 apresenta os dados de medidas antropométricas das voluntárias divididas de acordo com o estado nutricional segundo (IMC). Assim, 31 mulheres classificadas como eutróficas ( $18,5 \text{ kg/m}^2 < \text{IMC} < 24,99 \text{ kg/m}^2$ ), 28 apresentando sobrepeso ( $25 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 29,99 \text{ kg/m}^2$ ) e 11 com obesidade ( $\text{IMC} \geq 30,0 \text{ Kg/m}^2$ ) e no grupo das idosas 16 eutróficas ( $23 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 28 \text{ kg/m}^2$ ), 9 com indicativo de sobrepeso ( $28 \text{ kg/m}^2 \leq \text{IMC} \leq 30 \text{ kg/m}^2$ ) e 14 com indicativo de obesidade ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ).

Com exceção da RCQ, todas as medidas antropométricas foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) no grupo de sobrepeso e ou obesidade quando comparado ao grupo de indivíduos eutróficos. Porém, quando comparados os grupos de obesos com sobrepeso, foi observado aumento somente entre os adultos.

**Tabela 8: Distribuição das participantes da pesquisa de acordo com o gênero e média dos valores antropométricos.**

DADOS	AE	AS	AO	IE	IS	IO
N	31	28	11	16	9	14
IDADE	30,9± 10,8	33,6 ± 10,2	38,2±11,6	71,7±17,7	64,6±8,4	74,5±7,8
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	21,5±0,1,8	26,8±1,4*	33,1±4,4*#	23,4±2,6	28,0±1,4*	33,7±2,5*#
PESO ( Kg)	58,1±9,2	70,0±7,2*	88,6±10,4*#	57,9±7,4	71,6±8,5*	79,3±7,4*
PCT ( mm)	15,9±6,7	21,9±6,9*	29,9±6,5*#	20,1±7,0	22,8±6,1	28,1±5,4*
CINTURA ( cm)	78,3±8,2	89,5±8,1*	109,0±12,8*#	88,1±10,2	102,6±8,8*	102,4±5,1*
QUADRIL ( cm )	97,1±5,2	105,8±5,5*	120,0±5,6*#	98,1±5,9	107,1±9,4*	110,9±7,3*
RCQ (cm)	0,81±0,08	0,85±0,08	0,91±0,10	0,90±0,08	0,96±0,04	0,93±0,07

AE= adultas eutróficas / AS= adultas com sobrepeso / AO= adultas obesas / IE= idosas eutróficas / IS= idosas com sobrepeso / IO= idosas obesas. IMC (índice de massa corporal); PCT ( prega cutânea tricipital ); RCQ (relação cintura e quadril) Para a diferença entre os grupos foi realizado o teste One-way para análise de variâncias e teste Tukey de comparação múltiplas,  $p < 0,05$ . (\*) Representa aumento em relação às eutróficas, na mesma faixa etária; (#) representa aumento em relação às com sobrepeso, na mesma faixa etária.

## **4.2 . Avaliações bioquímicas**

As avaliações bioquímicas realizadas nas amostras de sangue dos voluntários no Laboratório Piloto de Análises Clínicas - Escola de Farmácia- Universidade Federal de Ouro Preto (LAPAC), encontram-se descritas na tabela 9.

Mulheres adultas apresentaram valores significativamente maiores de VLDL e menores de HDL associados à condição de obesidade quando comparados à condição de eutrofia. No grupo das mulheres idosas, observou-se valores significativamente menores de colesterol e LDL naquelas apresentando obesidade em relação ao quadro de eutrofia e valores de glicemia significativamente maiores naquelas apresentando sobrepeso quando comparados à condição de eutrofia. Ao compararmos o grupo de indivíduos idosos com adultos, foram encontrados menores valores entre os grupos obesos para colesterol e LDL e significativamente maior entre os que apresentaram sobrepeso, para glicemia. Em relação às demais dosagens bioquímicas (VLDL, HDL, TG e glicemia) não foram encontradas diferenças entre os grupos.

**Tabela 9: Média dos valores bioquímicos de colesterol total e frações, triglicérides e glicemia.**

<b>Parâmetros</b>	<b>AE</b>	<b>AS</b>	<b>AO</b>	<b>IE</b>	<b>IS</b>	<b>IO</b>	<b>Referências</b>
<b>Colesterol Total (mg/dl)</b>	200,6±35,7	206,9±51,9	226,2±26,2	223,5±61,7	196,2±48	175,3±32,6+	< 200
<b>VLDL (mg/dl)</b>	13,5±5,7	15,6±7,7	19,9±6,9*	22,2±10,3	18,1±6,3	25,3±11,5	< 30
<b>LDL ( mg/dl)</b>	123,4±29,2	131,8±37,2	153,4±22,3	145,4±53,9	121,3±43,4	105,0±33,4+	< 130
<b>HDL ( mg/dl)</b>	64,8±13,2	57,2±12,6	52,7±11,4+	54,5±10,9	55,5±13,1	47,0±6,0	> 60
<b>TG ( mg/dl)</b>	61,2±27,5	77,7±39,8	101,2±35	117,6±52,9	91,3±31,0	114,1±37,4	< 150
<b>Glicemia(mg/dl)</b>	87,6±6,9	94,3±13,0	96,9±10,0	100,1±16,1	130,8±62,2*	105,9±34,8	< 100

Valores de Referência do perfil lipídico segundo V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose (2013).

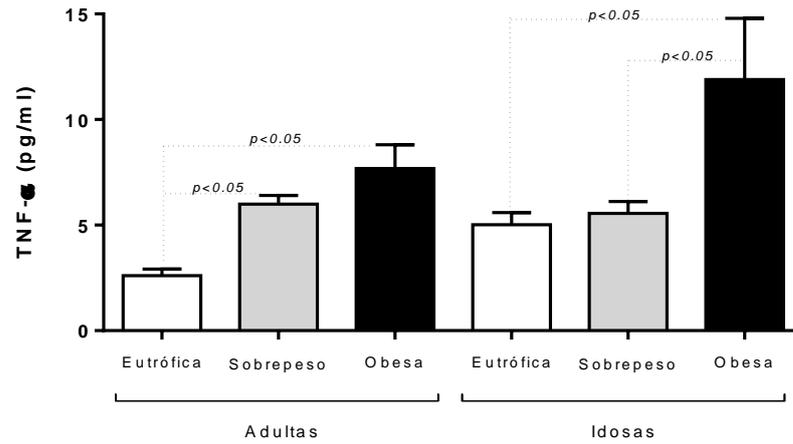
Valores de Referência para glicemia de jejum segundo 'American Diabetes Association' (2004)

VLDL: Lipoproteína de Densidade Intermediária/ LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade HDL: Lipoproteína de Alta Densidade/ TG: Triglicérides. AE= adultas eutróficas / AS= adultas com sobrepeso / AO= adultas obesas / IE= idosas eutróficas / IS= idosas com sobrepeso / IO= idosas obesas. (\*) Representa aumento em relação às eutróficas, na mesma faixa etária; (+) representa diminuição em relação às eutróficas, na mesma faixa etária. Para a diferença entre os grupos foi realizado o teste One-way para análise de variâncias e teste Tukey de comparação múltiplas,  $p < 0,05$ .

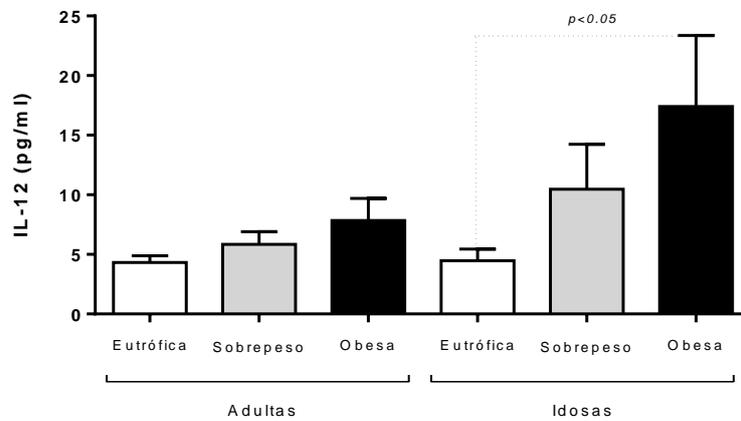
No presente estudo as avaliações bioquímicas de VLDL apresentaram valores significativamente maiores quando comparado ao grupo eutrófico, assim como a glicemia no grupo de mulheres idosas com sobrepeso. Em relação às outras dosagens bioquímicas não foram encontradas diferenças.

### **4.3. Avaliações dos biomarcadores inflamatórios**

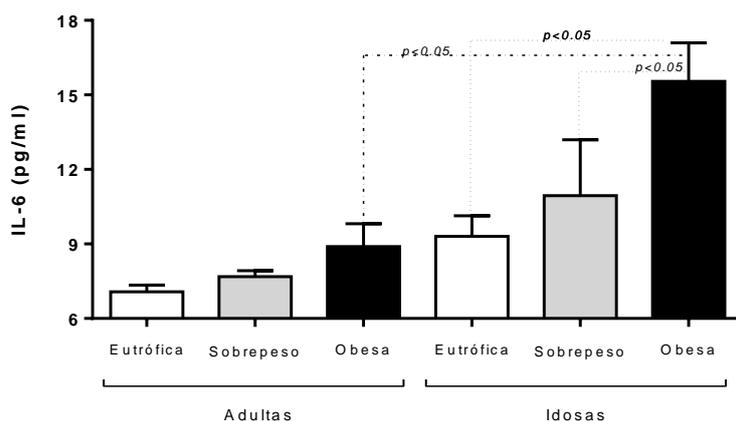
Em relação ao perfil de adipocinas circulantes, para o biomarcador TNF- $\alpha$  foi observado aumento nos grupos de mulheres adultas e idosas com obesidade, quando comparadas às eutróficas. Ainda em comparação às eutróficas foram encontrados maiores valores no grupo de adultas com sobrepeso. Já quando comparamos com o grupo sobrepeso, observou-se maiores valores nas obesas somente no grupo das idosas (figura 1). As citocinas IL-12 (figura 2), IL-6 (figura 3), IL-8 (figura 4), IL-1 $\beta$  (figura 5) e IL-10 (figura 6) mostraram valores superiores no grupo das idosas obesas em relação às eutróficas assim como TNF- $\alpha$  (figura 1) e IL-6 (figura 3) em relação ao grupo sobrepeso. Já quando comparamos a elevação das citocinas no grupo com sobrepeso em relação às eutróficas foi encontrada diferença somente para a IL-1 $\beta$ . Ao compararmos mulheres adultas e idosas com a mesma classificação para excesso de peso, observou-se maiores valores no grupo das idosas obesas em comparação às adultas obesas para as citocinas IL-6 (figura 3), IL-8 (figura 4) e IL-10 (figura 6), e valores aumentados da IL-1 $\beta$  (figura 5) no grupo das idosas com sobrepeso comparadas às adultas com sobrepeso.



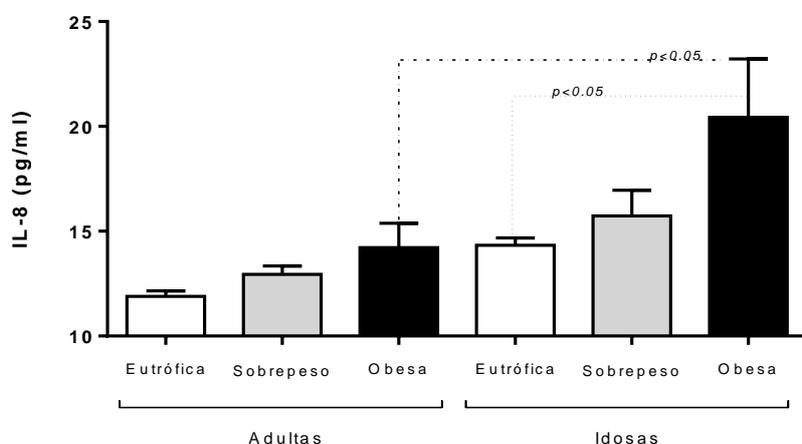
**Figura 1: Concentração plasmática do Fator de Necrose Tumoral em mulheres adultas e idosas.** Concentração de TNF- $\alpha$  (pg/ml) avaliada por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array'), em mulheres adultas e idosas, ambas eutróficas, com sobrepeso e obesas. As análises comparativas das médias dos grupos foram realizadas utilizando a análise de variância Oneway (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%.



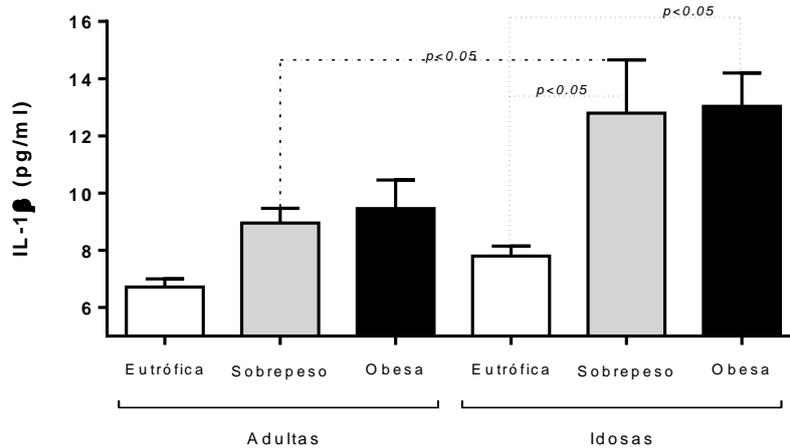
**Figura 2: Concentração plasmática da Interleucina-12 em mulheres adultas e idosas.** Concentração de IL-12 (pg/ml) avaliada por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array'), em mulheres adultas e idosas, ambas eutróficas, com sobrepeso e obesas. As análises comparativas das médias dos grupos foram realizadas utilizando a análise de variância Oneway (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%.



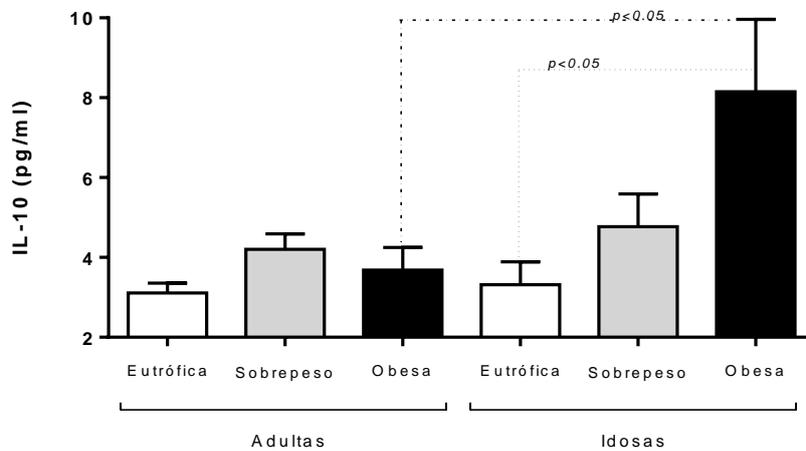
**Figura3: Concentração plasmática da Interleucina-6 em mulheres adultas e idosas.** Concentração de IL-6 (pg/ml) avaliada por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array'), em mulheres adultas e idosas, ambas eutróficas, com sobrepeso e obesas. As análises comparativas das médias dos grupos foram realizadas utilizando a análise de variância Oneway (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%.



**Figura4: Concentração plasmática da Interleucina-8 em mulheres adultas e idosas.** Concentração de IL-8 (pg/ml) avaliada por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array'), em mulheres adultas e idosas, ambas eutróficas, com sobrepeso e obesas. As análises comparativas das médias dos grupos foram realizadas utilizando a análise de variância Oneway (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%.



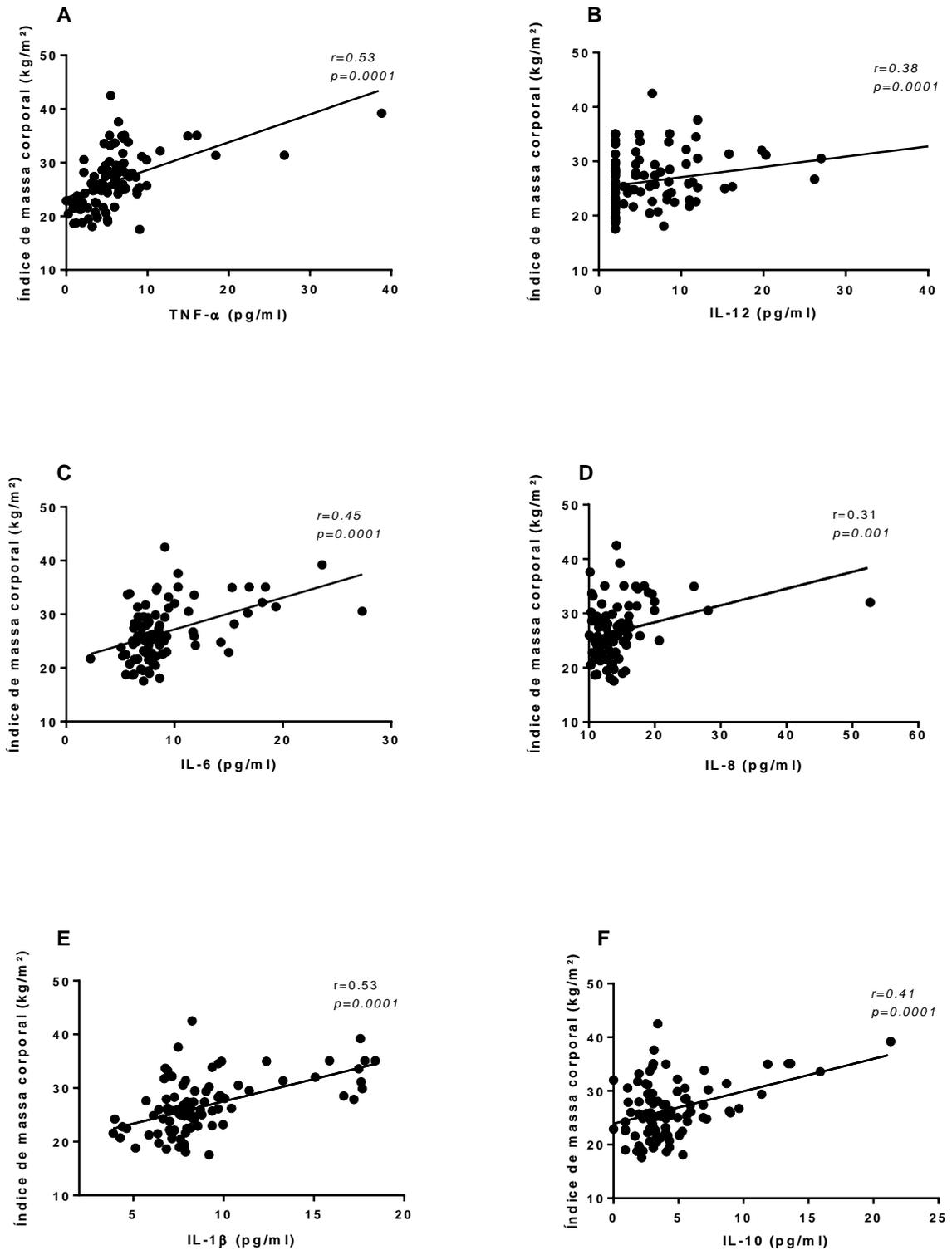
**Figura 5: Concentração plasmática da Interleucina-1β em mulheres adultas e idosas.** Concentração de IL-1β (pg/ml) avaliada por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array'), em mulheres adultas e idosas, ambas eutróficas, com sobrepeso e obesas. As análises comparativas das médias dos grupos foram realizadas utilizando a análise de variância Oneway (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%.



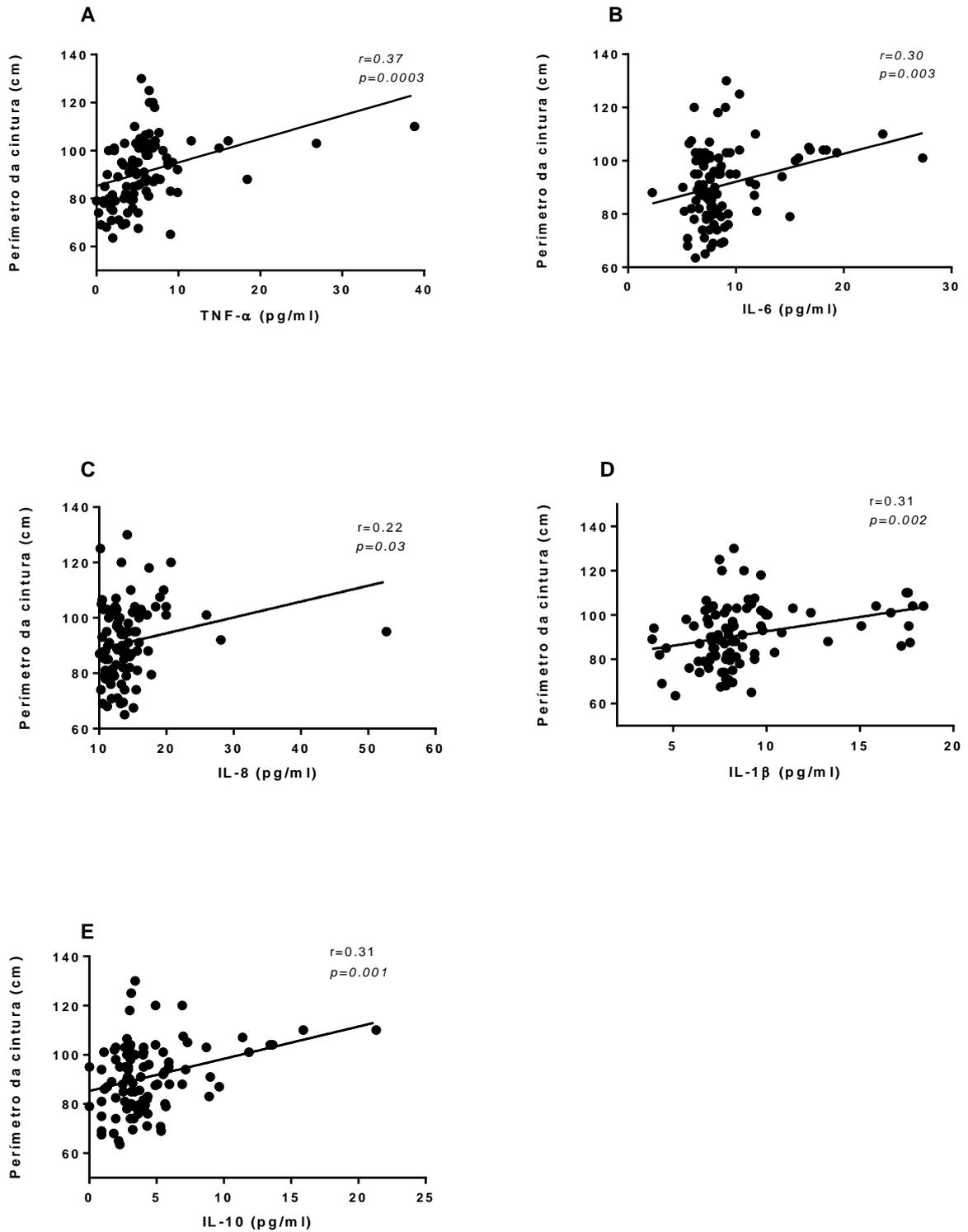
**Figura 6: Concentração plasmática da Interleucina-10 em mulheres adultas e idosas.** Concentração de IL-10 (pg/ml) avaliada por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array'), em mulheres adultas e idosas, ambas eutróficas, com sobrepeso e obesas. As análises comparativas das médias dos grupos foram realizadas utilizando a análise de variância Oneway (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%.

#### **4.4 Correlação entre biomarcadores inflamatórios e parâmetros antropométricos**

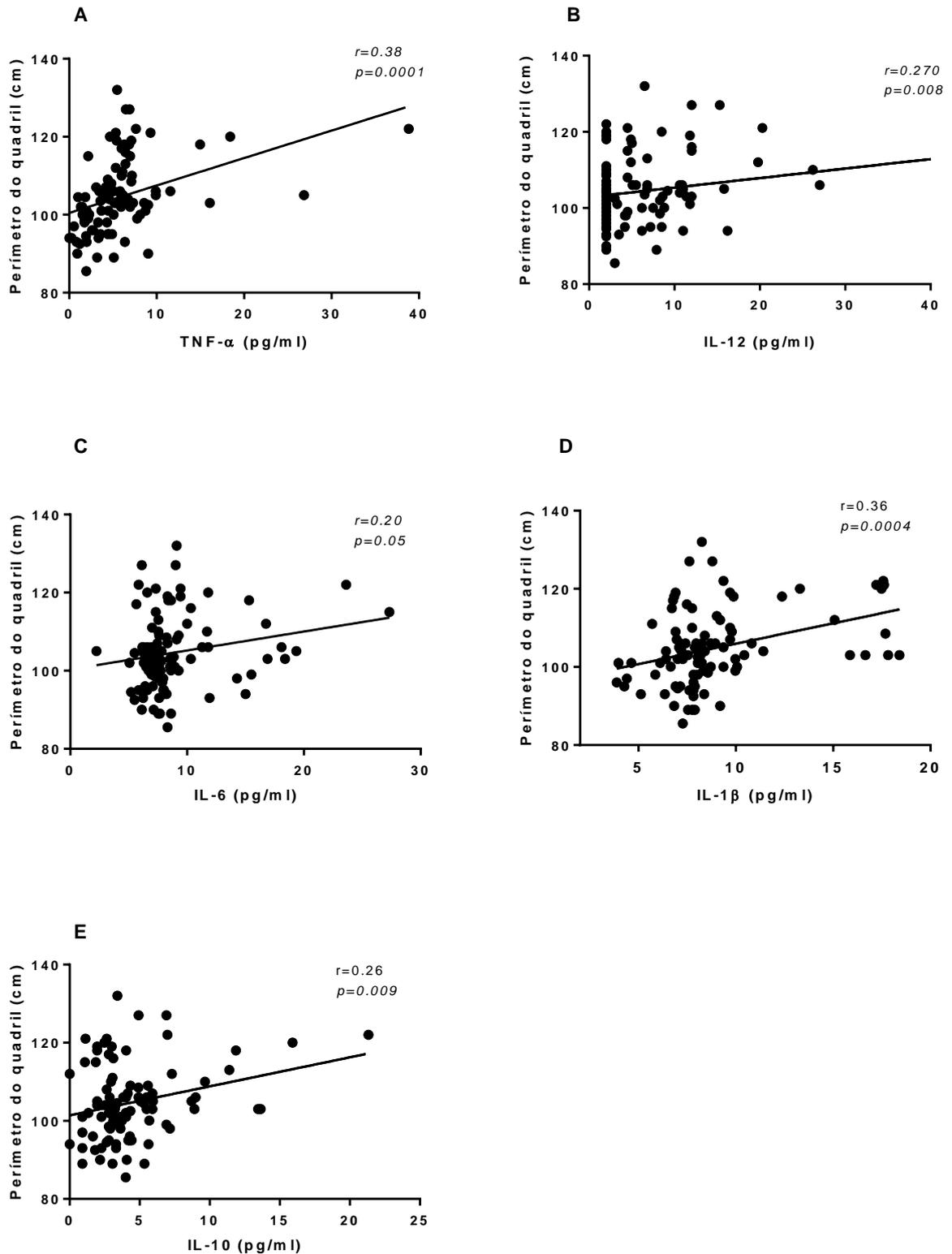
Todas as citocinas mensuradas, TNF- $\alpha$  (figura 7A), IL-12 (figura 7B), IL-6 (figura 7C), IL-8 (figura 7D), IL-1 $\beta$  (figura 7E) e IL-10 (figura 7F), apresentaram correlação positiva com o índice de massa corporal. Também houve correlação positiva entre o perímetro da cintura e o TNF- $\alpha$  (figura 8A), IL-6 (figura 8B), IL-8 (figura 8C), IL-1 $\beta$  (figura 8D) e IL-10 (figura 8E). O perímetro do quadril correlacionou-se positivamente com os biomarcadores inflamatórios TNF- $\alpha$  (figura 9A), IL-12 (figura 9B), IL-6 (figura 9C), IL-1 $\beta$  (figura 9D) e IL-10 (figura 9E), já a prega cutânea tripectral com TNF- $\alpha$  (figura 10A), IL-6 (figura 10B), IL-8 (figura 10C) e IL-1 $\beta$  (figura 10D). Não foram observadas correlações do preditor antropométrico relação cintura quadril com nenhuma citocina.



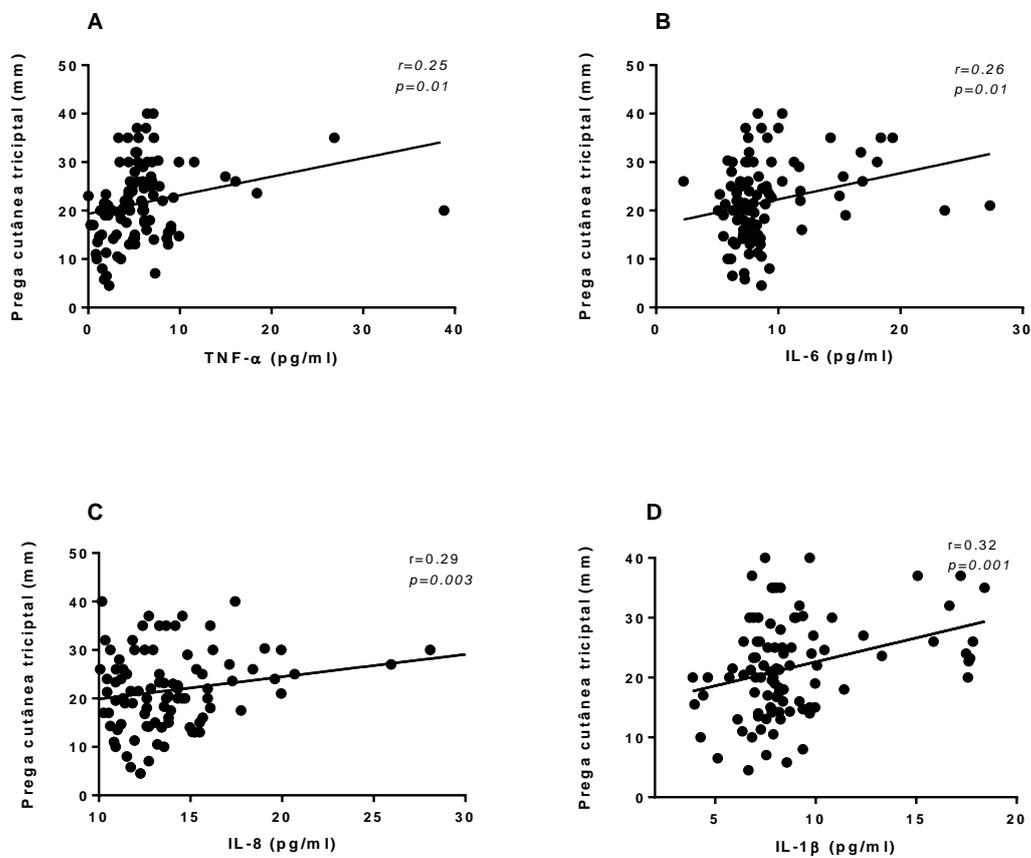
**Figura 7:** Correlações entre o parâmetro antropométrico índice de massa corporal (IMC) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas: Os valores das citocinas circulantes foram avaliados por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array') no soro e todas apresentaram correlação com o IMC, avaliado nas participantes adultas e idosas.  $P < 0,05 =$  existência de diferença.



**Figura 8:** Correlações entre o parâmetro antropométrico perímetro da cintura (PC) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas: Os valores das citocinas circulantes foram avaliados por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array') no soro, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  e IL-10 apresentaram correlação com o PC, avaliado nas participantes adultas e idosas.  $P < 0,05 =$  existência de diferença.



**Figura 9:** Correlações entre o parâmetro antropométrico perímetro do quadril (PQ) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas: Os valores das citocinas circulantes foram avaliados por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array') no soro, TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-6, IL-1 $\beta$  e IL-10 apresentaram correlação com o PQ, avaliado nas participantes adultas e idosas.  $P < 0,05$  = existência de diferença.



**Figura 10:** Correlações entre o parâmetro antropométrico prega cutânea tripectral (PCT) e biomarcadores inflamatórios em voluntárias adultas e idosas: Os valores das citocinas circulantes foram avaliados por citometria de fluxo (“Cytometric Bead Array”) no soro, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 e IL-1 $\beta$  apresentaram correlação com o PCT, avaliada nas participantes adultas e idosas.  $P < 0,05$  = existência de diferença.

## 5. DISCUSSÃO

O excesso de gordura corporal é uma doença inflamatória crônica que afeta pessoas de todas as idades. Doenças relacionadas ao excesso de tecido adiposo emergiram como as principais causas de mortalidade cardiovascular, em todo mundo (DWYER-LINDGREN *et al.*, 2013). Pessoas obesas apresentam maior prevalência de síndrome metabólica, hipertensão arterial, disfunção diastólica, hipertrofia ventricular esquerda, aumento da rigidez arterial e calcificação arterial quando comparados à indivíduos com peso normal, além de apresentarem maior incidência de doença hepática gordurosa não alcoólica (MCGORIAN *et al.*, 2011; ROGGE *et al.*, 2013; GHIGLIOTTI *et al.*, 2014). Nas últimas décadas a proporção de obesos no Brasil e no mundo vem aumentando significativamente e apresenta maior prevalência entre as mulheres, inclusive idosas (VENTURINI *et al.*, 2013; CAVALCANTI *et al.*, 2010). O Brasil vivencia hoje a era do envelhecimento, onde a população idosa aumenta considerável e tendenciosamente. Estimativas apontam que até 2025 a população idosa crescerá três vezes mais do que a população total (CAVALCANTI *et al.*, 2010; CABRERA e JACOB, 2001). Essas modificações na organização populacional e o crescimento da população obesa e idosa repercutem na ocorrência e predomínio das doenças, bem como nas principais causas de óbito. Desta forma, faz-se necessário que haja compreensão das condições que refletem nas doenças associadas ao excesso de peso e a idade.

A definição do tecido adiposo como um órgão endócrino ganhou relevância recentemente, apropriando-se do papel essencial no controle do metabolismo e relacionando-se com órgãos e sistemas no organismo. Este tecido possui, além dos adipócitos, células do estroma vascular, matriz de tecido conjuntivo, tecido nervoso, nódulos linfáticos, fibroblastos, pré-adipócitos e células do sistema imunológico (BRITO *et al.*, 2006; GHIGLIOTTI *et al.*, 2014). Em humanos o tecido adiposo é dividido em tecido adiposo branco e tecido adiposo marrom (LEITE *et al.*, 2009; PEREIRA, 2008; BRITO *et al.*, 2006). O tecido adiposo marrom, envolvido na termogênese, é encontrado em maiores proporções em recém nascidos, diminuindo nos primeiros anos de vida (FRONTINI, 2010). Já o tecido adiposo branco, localizado periféricamente nas regiões subcutânea e visceral, é responsável pelo armazenamento de

gordura sobre a forma de triglicerídeos, oferece proteção mecânica contra choques, funciona como isolante térmico e ganhou destaque em estudos recentes devido a descoberta de sua função endócrina com a secreção de adipocinas e seu envolvimento em vários processos fisiológicos e metabólicos (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006; GONZAGA, 2012). Existem vários mecanismos envolvidos na atividade inflamatória relacionada à adiposidade, como estresse do retículo endoplasmático, a redução da adiponectina, elevação leptina, morte de adipócitos, infiltração de macrófagos e lipólise. A hipóxia de tecido adiposo vem sendo proposta como um fator comum para todas estas alterações. Direta ou indiretamente, induz a expressão de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 e IL-8 (HALBERG *et al.*, 2008; YE, 2009; YE e MCGUINNESS, 2012). Diferente de outros processos inflamatórios, na obesidade a inflamação possui como fator desencadeador o excesso de nutrientes, que induz hipertrofia e também hiperplasia dos adipócitos. Esta adipogênese, acarreta na diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros, levando à secreção de adipocinas. Dentre os aspectos desse distúrbio, o tecido adiposo sofrerá alterações, como por exemplo um aumento do número de macrófagos. Ocorre uma migração dessas células inflamatórias da circulação para o tecido graças ao recrutamento induzido por citocinas produzidas na massa adiposa como MCP-1 e IL-8. Com uma maior quantidade de macrófagos, ocorrerá amplificação na produção de citocinas e conseqüentemente, aumento do perfil inflamatório (FRANCISQUETI *et al.*, 2015). A hipertrofia do adipócito poderá resultar também em uma hipóxia no tecido adiposo, causada por uma hipoperfusão devido compressão dos vasos, promovendo a morte de adipócitos e desencadeando uma cascata de resposta inflamatória. O baixo suprimento de oxigênio por si só aumentará a quimiotaxia de macrófagos induzindo a secreção de citocinas pró-inflamatórias (LEITE, 2009). Tal como na obesidade, na senescência os níveis basais de citocinas pró-inflamatórias também encontram-se aumentados, contribuindo para o surgimento de doenças que apresentam componente inflamatório em suas respectivas fisiopatologias como Alzheimer, aterosclerose, diabetes e alguns cânceres (FRANCESCHI *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2011).

À medida que a ocorrência de doenças associadas à obesidade e senescência aumentam, torna-se imprescindível a antecipação do processo de identificação dos distúrbios antes do surgimento, afim de proporcionar oportunidades críticas para a intervenção precoce e prevenção. Dessa forma o desenvolvimento de

biomarcadores torna-se indispensável para a detecção e curso de patologias. No presente estudo fez-se a pesquisa com os biomarcadores inflamatórios TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12, IL-8, IL-1 $\beta$  e IL-10 afim de complementar os biomarcadores antropométricos e bioquímicos já evidenciados em estudos com excesso de peso.

As dislipidemias caracterizam-se por alterar os níveis sanguíneos de lipídios, uma disfunção que se atribui especialmente ao aumento do colesterol total e dos triglicerídeos. Esses transtornos podem apresentar diversas origens, como: excesso de peso, dietética, genética, hormonal, infecciosa, consumo exacerbado de álcool, sedentarismo e outros (STADLER, 2011; SANTOS *et al.*, 2014) . Assim como a obesidade, as dislipidemias associam-se ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (GONZAGA *et al.*, 2012). No presente estudo, o excesso de peso não apresentou associação com aumento dos valores de LDL, colesterol total e TG porém a obesidade foi o fator associado ao aumento da VLDL e à redução da HDL no grupo de adultos obesos quando comparados às eutróficas da mesma faixa etária. Estes resultados sugerem uma predisposição de mulheres, adultas e idosas, obesas ao desenvolvimento de aterogênese.

Existem vários métodos para estimar a quantidade de gordura corporal, assim como sua distribuição. Apesar de existirem tecnologias avançadas e exatas como a bioimpedância, tomografia e a ressonância, a antropometria ainda continua sendo amplamente utilizada devido a sua acessibilidade e precisão. Dentre as medidas antropométricas o índice de massa corporal é o índice mais utilizado para estimar a gordura total e o perímetro da cintura assim como a relação cintura quadril, para avaliar a adiposidade central (BARBOSA *et al.*, 2009) . O aumento do índice de massa corporal associa-se ao desenvolvimentos de diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, gota e doenças osteoarticulares (WHO, 1998). Estudos apontam que, a adiposidade central, independente da faixa etária contribui com o desenvolvimento da síndrome metabólica e relaciona-se com doenças cardiovasculares, dislipidemias, hipercolesterolemia, e morte prematura (SBC, 2007; PONTIROLLI *et al.*, 2008; LOANIDIS *et al.*, 2008; SILVEIRA *et al.*, 2010; CHEN, *et al.*, 2011; SUKA, *et al.*, 2011). Em nosso estudo, para os valores do índice de massa corporal, perímetro da cintura e perímetro do quadril observamos um aumento progressivo associado ao ganho de peso em ambos grupos. Sugerindo uma predisposição ao desenvolvimento de doenças associadas ao ganho de peso e maior risco de morbidade e mortalidade.

Estudos demonstram uma associação entre esta elevação do risco de desenvolvimento da síndrome metabólica, em indivíduos com excesso de peso, a uma inflamação subclínica, onde ocorre aumento dos níveis de adipocinas pró-inflamatórias, tais como IL-6 e TNF- $\alpha$  (CREELY *et al.*, 2000; GREGOR e HOTAMISLIGIL, 2011; SIPPEL *et al.*, 2014). Dentre as diversas adipocinas secretadas pelo tecido adiposo, destacam-se o TNF- $\alpha$  e as interleucinas 1 $\beta$ , 6 e 8 (IL-1 $\beta$ , 6 e 8) (QUEIROZ *et al.*, 2009). O TNF- $\alpha$  é uma proteína solúvel, secretada principalmente por macrófagos ativados e encontra-se envolvido na proliferação, diferenciação e apoptose celular. Promove o aumento e a expressão de moléculas de adesão necessárias para extravasamento leucocitário, assim como, o desenvolvimento e a expressão fenotípica da obesidade (YAN *et al.*, 1991; ABBAS *et al.*, 1998; ASSUMA, *et al.*, 1998; BINGHAN *et al.*, 2002; GEHRKE e PEREIRA, 2007). A inflamação do tecido adiposo de indivíduos com excesso de peso causada após a infiltração de macrófagos, pode ser associada à elevação do TNF- $\alpha$  (GREGÓRIO *et al.*, 2003; GEHRKE E PEREIRA, 2007). Assim como em nossa pesquisa, diversos estudos realizados com indivíduos eutróficos e obesos demonstraram uma correlação positiva entre o TNF- $\alpha$  e o IMC, propondo que altos níveis desta citocina correlacionam-se com acúmulo de massa adiposa (DANDONA e COLS, 1998; BASTARD e COLS, 2000; FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006; SIPPEL *et al.*, 2014). O TNF-  $\alpha$  também associa-se à distribuição e regulação do tecido adiposo, influenciando na organização da gordura corporal (SILVA, 2009). Em perda de peso involuntária, exaustão, fraqueza, o TNF-  $\alpha$  é apontado como melhor indicador de mortalidade (MACEDO *et al.*, 2008).

A IL-8 é produzida por macrófagos, células mesenquimais expostas a estímulos inflamatórios (como a IL-1 ou TNF- $\alpha$ ) e neutrófilos, induzindo quimiotaxia e exocitose. Encontrada em tecidos após infecções, inflamações, isquemia e traumas, é considerada a principal causa de deposição de neutrófilos (BAGGIOLINI e CLARK-NEWIS, 1992). Pode ser usada como um indicador clínico de doença arterial coronariana e possui seus níveis aumentados na hiperinsulinemia e na hiperglicemia, sugerindo uma possível participação no metabolismo de carboidratos (IKEOKA *et al.*, 2010). TRELLAKIS *et al.* (2012) encontrou níveis elevados de IL-8 em indivíduos com sobrepeso e obesidade, além de correlacionar positivamente seus valores com IMC. Em nosso estudo, somente as idosas com obesidade apresentaram aumento dos níveis de IL-8, perfil observado também para a IL-12. A IL-12 é produzida

principalmente por células dendríticas e macrófagos, uma citocina heterodimérica composta por duas subunidades, p40 e p35. Exerce múltiplos efeitos nas células T e NK (HUNTER, 2005). As funções biológicas de IL-12 são cruciais tanto na imunidade inata quanto na adaptativa, graças à ativação da via de sinalização JAK-STAT, onde induz a produção de IFN- $\gamma$  a partir de células T CD4 +, células NK e promove a diferenciação de células T CD4 + em células efetoras Th1, apresentando grande importância na proteção contra as infecções bacterianas (GEROSA, 1996). Em monócitos e macrófagos pode ter níveis elevados devido à ação da leptina (SILVEIRA *et al.*, 2009). FATUCH e ROSARIO FILHO (2005) associaram a gravidade da asma, em indivíduos obesos, aos altos índices de IL-12 provocados pela hiperleptinemia. LOUREIRO *et al* (2012) sugere que o fator modulador da interleucina em indivíduos asmáticos seja a resistina.

A IL-6, secretada por macrófagos e adipócitos viscerais predominantemente (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2006), apresenta características ambíguas, de caráter pró ou anti-inflamatório (SPERETTA *et al.*, 2014). Possui relação inversa com a sensibilidade à insulina inibindo a atividade do GLUT 4, sendo um bom preditor para desenvolvimento de diabetes tipo 2 (GUEDES *et al.*, 2014). SPERETTA e colaboradores (2014) relatam que níveis fisiológicos de IL-6 aparentam estimular os níveis séricos das citocinas anti-inflamatórias como o receptor antagonista de IL-1 (IL-1ra) e IL-10, além de impedir que citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$  sejam produzidas, reduzindo seus efeitos nocivos. Estudos realizados por TAM e colaboradores (2010) e MCFARLIN e colaboradores (2007) encontraram níveis aumentados de IL-6 em crianças com excesso de peso, quando comparadas às crianças eutróficas. Entretanto, alguns estudos não encontraram diferenças entre os níveis de IL-6 (MAFFEIS *et al.*, 2007; CABALLERO *et al.*, 2008). Neste estudo foram encontrados maiores níveis de IL-6 em indivíduos idosos obesos quando comparados ao grupo de eutrofia e sobrepeso, REXRODE e colaboradores (2003) descreveram também uma correlação positiva da IL-6 com o IMC. SILVA (2009) cita em sua pesquisa a existência de vários estudos que associam a superprodução da IL-6 com o envelhecimento, onde acontece uma complexa remodelagem dos parâmetros imunológicos, menciona que estudos indicam a IL-6 é como um parâmetro gerontológico e ressalta que sua produção, independente da associação com excesso de peso, inicia-se aos 30 a 40 anos atingindo seu ápice na velhice. MACEDO *et al* (2011)

aponta que níveis elevados de IL-6 associam-se a perda mais rápida do índice de massa magra em idosos. Assim como o TNF- $\alpha$ , a IL-6 é apontada como um importante indicador de mortalidade em idosos (LOPES, 2006; VOLPATO *et al*, 2001) . RAMOS *et al*. (2009), estes menciona que níveis de IL-6 maiores que 3,19 pg/dL foram associados com risco duas vezes maior de morte. Nossos resultados apontaram valores com média aproximada de 11 pg/ dL em idosas com sobrepeso e 15pg/dL nas obesas, valores de quatro a cinco vezes maiores do que os apresentados como fator de risco para mortalidade mencionados por RAMOS *et al* (2009). Este aponta que níveis de IL-6 maiores que 3,19 pg/dL, já seriam responsáveis por um risco duas vezes maior. Ressaltando que nossas voluntárias, além de possuir níveis elevados de IL-6, possuíam associadamente, excesso de peso, essas encontram-se ainda mais susceptíveis à mortalidade prematura.

Vários tipos celulares secretam IL-1 que é induzida por estímulos inflamatórios como, por exemplo, o TNF- $\alpha$ . Os efeitos da IL-1 sistêmica refletem na regulação da taxa metabólica basal, nos níveis de glicose, pressão arterial, metabolismo do ferro e remodelação óssea . Desempenha um importante papel em processos como a regulação termostática e promove a aderência de neutrófilos (INOUI, 2001; DINARELL, 1996; WATKINS e MAIER, 1999). A família da IL-1 consiste em duas citocinas pró-inflamatórias, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e um agente anti-inflamatório, o antagonista do receptor de IL-1 (IL-1Ra). Apesar de serem codificadas por genes distintos, as isoformas de IL-1 se ligam ao mesmo receptor. Estudos relatam que na obesidade a IL- $\beta$  encontra-se elevada e sugerem associação destes níveis com a resistência insulínica e a oxidação de lipídios, sugerindo que a mesma possa ser glicolipotóxica. Porém, estudos relacionados à lipotoxicidade são recentes e o fato sua secreção sofrer influência de vários fatores moduladores torna-se um obstáculo (CATTANI, 2012).

Além de relacionar-se com o aumento de lipídeos circulantes e a hiperglicemia, a IL- $\beta$  induz a processos que levam a apoptose dos adipócitos favorecendo a liberação de ácidos graxos livres. SARTORI-CINTRA *et al*. (2014) relatam que os níveis elevados da IL- $\beta$  e do TNF- $\alpha$  em indivíduos obesos seriam os desencadeadores do processo inflamatório iniciado na cartilagem no desenvolvimento da osteoartrite. CHEN *et al*. (2002), CHAO *et al*. (2010) e CARVALHO *et al*. (2011), demonstraram uma associação da IL- $\beta$  com a osteoporose em mulheres idosas. Nosso estudo identificou um aumento da IL- $\beta$  em idosas com sobrepeso e obesidade, quando

comparadas às eutróficas, além de encontrar menores níveis da citocina em mulheres adultas com a mesma condição de peso. Níveis elevados de IL-1 $\beta$  podem relacionar-se ao estresse oxidativo crônico desenvolvido em indivíduos com excesso de peso. As espécies reativas de oxigênio liberadas pelo tecido adiposo podem promover uma produção desregulada desta interleucina (FURUKAWA *et al.*, 2004).

A IL-10, reconhecida por sua capacidade de inibir a ativação e a função efetora de células T, monócitos e macrófagos, é uma citocina multifuncional com diversos efeitos sobre a maioria dos tipos de células hematopoiéticas. Sua principal função relaciona-se à sua atividade anti-inflamatória, regulando negativamente a expressão de citocinas pró-inflamatórias. Além destas atividades, a IL-10 regula o crescimento e diferenciação de células B, células NK, células T citotóxicas e auxiliar, mastócitos, granulócitos, células dendríticas, queratinócitos, e células endoteliais. BASHIRA *et al* (2011) não encontraram associação do excesso de peso com níveis da IL-10 e relataram uma correlação negativa com o IMC. Em nosso estudo a correlação observada foi positiva e as idosas com obesidade apresentaram maior concentração desta interleucina, diferente do que foi relatado por MACEDO *et al* (2011), onde os maiores níveis encontrados foram em idosos saudáveis. Pode-se sugerir que, devido quadro de elevação de citocinas pró-inflamatórias, ocorra um aumento da IL-10, visto que esta é uma citocina de caráter regulatório.

Nosso trabalho sugere uma relação do aumento de peso com os marcadores inflamatórios TNF-  $\alpha$  em adultos e TNF-  $\alpha$  , IL-12, IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  e IL-10 em idosos. Observou-se uma correlação positiva destes marcadores com os preditores antropométricos, principalmente com os indicadores de risco cardiovascular perímetro da cintura e IMC. Verificou-se uma elevação dos níveis das citocinas IL-6, IL-8, IL-10 e IL-1 $\beta$  em mulheres idosas quando comparadas à adultas com a mesma classificação para excesso de peso, sugerindo uma piora no perfil inflamatório quando o sobrepeso e a obesidade encontram-se associados à senescência. Nossos resultados evidenciam a necessidade de entender os mecanismos fisiológicos associados a esta condição, afim de conseguirmos identificar biomarcadores objetivos de prognóstico para que intervenções sejam realizadas precocemente. E, no futuro, ocorra a inserção na prática clínica de métodos mais sensíveis e que possuam maior especificidade como as dosagens de citocinas.

## 6. SÍNTESE DOS RESULTADOS

As tabelas 10 e 11 representam uma síntese dos resultados obtidos.

**Tabela 10: Perfil dos biomarcadores inflamatórios em mulheres adultas e idosas, eutróficas, com sobrepeso e obesas**

<b>Citocinas</b>	<b>Adultas</b>	<b>Idosas</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	Sobrepeso > Eutrofia	Obesidade > Eutrofia
	Obesidade > Eutrofia	Obesidade > Sobrepeso
<b>IL-12</b>	Não houve diferença	Obesidade > Eutrofia
<b>IL-6</b>	Não houve diferença	Obesidade > Eutrofia
		Obesidade > Sobrepeso
<b>IL-8</b>	Não houve diferença	Obesidade > Eutrofia
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	Não houve diferença	Sobrepeso > Eutrofia
		Obesidade > Eutrofia
<b>IL-10</b>	Não houve diferença	Obesidade > Eutrofia

*Perfil dos biomarcadores inflamatórios avaliados por citometria de fluxo ('Cytometric Bead Array'), em mulheres adultas e idosas, ambas eutróficas, com sobrepeso e obesas. As análises comparativas das médias dos grupos foram realizadas utilizando a análise de variância Oneway (ANOVA). Quando a ANOVA indicou diferença significativa, para identificar quais são os níveis que diferem os valores médios da variável resposta, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Tukey. O nível de significância dos testes realizados foi de 5%.*

**Tabela 11: Correlação entre mediadores inflamatórios e parâmetros antropométricos em adultas e idosas.**

<b>Citocinas</b>	<b>IMC</b>	<b>PC</b>	<b>PQ</b>	<b>PCT</b>	<b>RCQ</b>
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>não</b>
<b>IL-12</b>	<b>+</b>	<b>não</b>	<b>+</b>	<b>não</b>	<b>não</b>
<b>IL-6</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>não</b>
<b>IL-8</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>não</b>	<b>+</b>	<b>não</b>
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>não</b>
<b>IL-10</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>não</b>	<b>não</b>

*Correlações entre o parâmetro antropométricos IMC (índice de massa corporal); PC (perímetro da cintura); PQ (perímetro do quadril; PCT ( prega cutânea tricipital ); RCQ (relação cintura e quadril) e biomarcadores inflamatórios, TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  e IL-10, em adultas e idosas: Os valores das citocinas circulantes foram avaliados por citometria de fluxo('Cytometric Bead Array') no soro avaliada nas participantes adultas e idosas.  $P < 0,05$  = existência de diferença; + = correlação positiva e "não" = não existe correlação.*

## **7. CONCLUSÃO**

Este estudo demonstrou uma correlação entre o excesso de peso e maiores níveis plasmáticos dos biomarcadores inflamatórios, TNF- $\alpha$ , IL-12, IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  e IL-10, principalmente em mulheres idosas. Indicou, também, uma correlação entre estas citocinas e os preditores antropométricos de doenças cardiovasculares IMC e perímetro da cintura, bem como as medidas do perímetro do quadril e prega cutânea tricipital. Estes resultados, sugerem um aumento do risco de desenvolvimento de doenças associadas ao sobrepeso e obesidade.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K. *et al.* Citocinas. Imunologia celular e molecular. 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter 1998

ACUNA, K. e CRUZ, T. Avaliação do estado nutricional de adultos e idosos e situação nutricional da população brasileira. Arq Bras Endocrinol Metab, São Paulo , 2004 .

AQUINO, R.C. e PHILIPI, S.T. Consumo infantil de alimentos industrializados e renda familiar na cidade de São Paulo. Revista Saúde Pública, 2002;

ARSLAN, N. *et al.* *Hormones and cytokines in childhood obesity. Indian Pediatrics*, 2010.

Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO). Mapa da Obesidade, 2015. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/atitude-saudavel/mapa-obesidade>

Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO). Diretrizes Brasileiras de Obesidade, 2010. Disponível em: [http://www.abeso.org.br/pdf/diretrizes\\_brasileiras\\_obesidade\\_2009\\_2010\\_1.pdf](http://www.abeso.org.br/pdf/diretrizes_brasileiras_obesidade_2009_2010_1.pdf)

ASSUMA, R. *et al.* *IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. J Immunol*, 1998.

BAGGIOLINI, M. e CLARK-LEWIS, I. *Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. FEBS Letters*, 1992.

BAHIA, L.R. ; DENIZAR, V.A. Impacto Econômico da Obesidade no Brasil. Revista Hospital Universitário Padre Ernesto, 2014.

BARBIERI, A.F. e MELLO, R.A. As Causas da Obesidade: Uma Análise sob a Perspectiva Materialista Histórica. Revista da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas,2012.

BARBIERI, A.F. *et al.* As Causas Da Obesidade: Uma Análise Sob a Perspectiva Materialista Histórica Revista da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas, 2012.

BARBOSA, L.S. *et al.*, 2009. Associação entre marcadores antropométricos de adiposidade corporal e hipertensão arterial na população adulta de Cuiabá, Mato Grosso Rev Bras Epidemiol, 2009.

BARROSO, S.G. *et al.* A Participação do Tecido Adiposo Visceral na Gênese da Hipertensão e Doença Cardiovascular Aterogênica: Um Conceito Emergente. Arq. Bras. Cardiol., São Paulo , 2002 .

BASHIRA, A. *et al.* *The Roles of IL-6, IL-10, and IL-1RA in Obesity and Insulin Resistance in African-Americans. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2011.

BINGHAM, C.O. *The pathogenesis of rheumatoid arthritis: pivotal cytokines involved in bone degradation and inflammation. J Reum* 2002.

BORBA, *et al* Avaliação do Perfil Antropométrico e Alimentar de Idosos Institucionalizados em Blumenau - Santa Catarina Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento. Periódico do Instituto Brasileiro de Pesquisa e Ensino em Fisiologia do Exercício, 2007.

BOUCHARD, C. *Genetics of obesity: overview and research direction. The Genetics of Obesity. Boca Raton*, 1994.

BRITO *et al*, 2011. Exercício físico como fator de prevenção aos processos inflamatórios decorrentes do envelhecimento. Motriz: Revista de Educação Física, 2011 .

BRITO *et al*,2013. Produtos naturais ativadores de PPAR e marcadores associados ao processo inflamatório na Síndrome Metabólica Rev. Bras. Pl. Med., Campinas, 2013.

CABRERA, M. A.S. e JACOB FILHO, Wilson. Obesidade em idosos: prevalência, distribuição e associação com hábitos e co-morbidades. Arq Bras Endocrinol Metab, 2001 .

Canadian Institute for Health Information (CIHI) . *Obesity In Canada. The Public Health Agency of Canada*, 2011. Disponível em: [https://secure.cihi.ca/free\\_products/Obesity\\_in\\_canada\\_2011\\_en.pdf](https://secure.cihi.ca/free_products/Obesity_in_canada_2011_en.pdf)

CARVALHO, L. C. L. *et al.* Polimorfismo nos genes interleucina-1 $\beta$  e VDR relacionado à osteoporose em idosos: estudo piloto Revista Conscientiae Saúde, 2011.

CARVALHO, M.H.C e FORTES, A.L.C 2006 Citocinas, Disfunção Endotelial e Resistência à Insulina Arq Bras Endocrinol Metab, 2006.

CASTRO, D.G.C. *et al.* Intervenção na obesidade em idosos. Monografia (Curso de especialização em Geriatria. Serviço de Geriatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. 2008.

CATTANI, F.M. associação entre o polimorfismo +3954 gene da interleucina-1 beta, obesidade, LDL - oxidado e seu potencial efeito lipotóxico. Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de PósGraduação Ciências Biológicas, Área de concentração em Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS).

CAVALCANTI, C.L. *et al.* Envelhecimento e Obesidade: Um Grande Desafio no Século XXI. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, 2010.

CERVI, *et al.* Análise crítica do uso do índice de massa corporal para idosos Rev. Nutr , 2005.

CHAO, T.H. *et al.* Association of interleukin-1 beta (-511C/T) polymorphisms with osteoporosis in postmenopausal women. *Annals of Saudi Medicine*, 2010.

CHEN, G. *et al.*. Body fat distribution and their associations with cardiovascular risk, insulin resistance and  $\beta$ -cell function: are there differences between men and women. Int J Clin Pract. 2011

CHEN, H.Y. *et al.* Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in postmenopausal women: correlation to bone mineral density and susceptibility to osteoporosis. Maturitas, 2002.

CREELY *et al.* *Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 2000.

DINARELLO, C.A. *Biologic basis for interleukin-1 in disease. Blood*, 1996.

DWYER-LINDGREN, L. *et al.* *Prevalence of physical activity and obesity in US counties, 2001–2011: a road map for action. Population Health Metrics*. 2013.

ENES, C.C. e SLATER, B.. *Obesidade na adolescência e seus principais fatores determinantes. Rev. bras. epidemiol.*, 2010 .

ENES, C.C.; SLATER, B.. *Obesidade na adolescência e seus principais fatores determinantes. Rev. bras. Epidemiol.*, 2010.

FATUCH, M.O.C. e ROSARIO FILHO, N.A. *Relação entre obesidade e asma Revista Brasileira de Alergia e Imunopatologia*, 2005.

FONSECA, J e SANTOS, C.A. 2013. *Anatomia aplicada à clínica: antropometria na avaliação nutricional de 367 adultos submetidos a gastrostomia endoscópica. Acta Médica Portuguesa* 2013.

FONSECA-ALANIZ, Miriam H. *et al* . *O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. Arq Bras Endocrinol Metab*, 2006.

FRANCESCHI, *et al.* *Inflammaging. An evolutionary perspective on immunosenescence. Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000.

FRANCISCHI, R.P.P, *et.al.* *Obesidade: atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento, Rev. Nutr.*, 2000.

FRONTINI, A. CINTI, S. *Distribution and development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ. Cell Metabolism*, 2010.

FUKUHARA, S. *et al.* *Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. Journal of Clinical Investigation.v.*, 2004.

GEHRKE, J. e PEREIRA, R.Z. Associação do Fator de Necrose Tumoral-Alfa (TNF- $\alpha$ ) com a Obesidade. *Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento*, 2007.

GEROSA, F. *et al.* Interleukin-12 primes human CD4 and CD8 T cell clones for high production of both interferon-gamma and interleukin-10. *The Journal of Experimental Medicine*, 1996.

GHIgliOTTI *et al.* Adipose Tissue Immune Response: Novel Triggers and Consequences for Chronic Inflammatory Conditions. *Inflammation*, 2014.

GOMES, F. *et al.* Obesidade e Doença Arterial Coronariana: Papel da Inflamação Vascular *Obesity and Coronary Artery Disease: Role of Vascular Inflammation*. *Arq. Bras. Cardiol.*, 2010.

GONZAGA, N.C. Leptina e fatores de risco cardiometabólicos em crianças e adolescentes. Dissertação de mestrado Universidade Estadual da Paraíba. 2012.

GREGOR, M.F e HOTAMISLIGIL, G.S. *Inflammatory Mechanisms in Obesity*. *Annual Review of Immunology*, 2011.

Gregorio, G.B.D.I. *et al.* Expression of CD68 and Macrophage Chemoattractant Protein-1 Genes in Human Adipose and Muscle Tissues Association With Cytokine Expression, Insulin Resistance, and Reduction by Pioglitazone. *Diabetes*, 2005.

GUEDES, J.M. *et al.* Marcadores inflamatórios, exercício físico e obesidade infantil: uma revisão. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*, 2014.

GUIMARÃES, D.E.D.; SARDINHA, F.L.C.; MIZURINI, D.M.; TAVARES DO CARMO, M.G. Adipocitocinas: uma nova visão do tecido adiposo. *Rev. Nutr.*, 2007.

HALBERG, N. *et al.* O adipócito como uma célula endócrina. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*, 2008.

HOTAMISLIGIL, G.S.; SHARGILL, N.S.; SPIEGELMAN, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 1993.

HUNTER, C.A. *New IL-12-family members: IL-23 and IL-27, cytokines with divergent functions. Nature Reviews Immunology*, 2005.

IKEOKA, Dimas. *et al.* O tecido adiposo, inflamação e doença cardiovascular. Revista da Associação Médica Brasileira, 2010.

INOUI, A. *Cytokines and sickness behavior: implications from knockout animal*

IOANNIDIS, I. *The road from obesity to type 2 diabetes. Angiology*. 2008.

LEITE, L.D. *et al.* Obesidade: Uma doença inflamatória. Revista Ciência & Saúde, Porto Alegre, 2009.

LEV-RAN, A. "Genotipo Parsimonioso, Obesità, Diabete e la Società Dello Spreco." Diabetic Clinic, Maccabi Health Services, Petah-Tikva, Israel. 2000.

LOPES, A.C. Diagnóstico e Tratamento, volume 2. Barueri, São Paulo. Editora Manole, 2006.

LOUREIRO, C. *et al.* *Values of resistin, adiponectin and leptin in overweight patients with asthma. Rev. Port. Imunoalergologia*, 2012 .

MACEDO, C. *et al.* Síndrome da fragilidade no idoso: importância da fisioterapia. Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde, 2008.

MAFFEIS, C. . *et al.* *Fat cell size, insulin sensitivity, and inflammation in obese children. Journal of Pediatrics*, 2007.

MATOS *et al.* Adipocinas: uma visão geral dos seus efeitos metabólicos. Revista HUPE, 2014.

MCFARLIN, B. K. *et al.* *Inflammatory markers are elevated in overweight Mexican-American children. Int International Journal of Pediatric Obesity*, 2007.

MCGORRIAN, C. *et al.* Estimating modifiable coronary heart disease risk in multiple regions of the world: the INTERHEART Modifiable Risk Score. European Heart Journal. 2011.

McKinsey Global Institute. *How the world could better fight obesity*, 2014. Disponível em:

[http://www.mckinsey.com/insights/economic\\_studies/how\\_the\\_world\\_could\\_better\\_fight\\_obesity](http://www.mckinsey.com/insights/economic_studies/how_the_world_could_better_fight_obesity)

Ministério da Saúde. A história da alimentação do homem: das frutas aos *nuggets*, 2015. Disponível em <http://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/7201-a-historia-da-alimentacao-do-homem-das-frutas-aos-nuggets>

Ministério da Saúde. Oficina de capacitação sobre obesidade para profissionais da SRS-BH, 2015. Disponível em: <http://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/7072-ses-promove-oficina-de-capitacao-sobre-obesidade-para-profissionais-da-srs-bh>

*models. Trends in Immunology*, 2001.

MOREIRA, M.S.F; OLIVEIRA, F.M; RODRIGUES, W. ; OLIVEIRA, L.C.N. ; MITIDIERO, J; FABRIZZI, F; BERNARDO, D.N.A.. Doenças associadas à obesidade infantil / Diseases associated the obesity child. Rev. Odontol. Araçatuba, 2014.

MOURÃO, P. e GONÇALVES, F. A Avaliação da composição corporal- a medição de pregas adiposas como técnica para avaliação da composição corporal. Revista de desporto e saúde da fundação técnica e científica do desporto, 2007.

OLIVEIRA, C.M.B. *et al.* Citocinas e Dor. Revista Brasileira de Anestesiologia, 2011.

OLIVEIRA, L.H e ALMEIDA,P. Obesidade: Aspectos Gerais dos Fatores, Tratamento e Prevenção. Revista Polidisciplinar Eletrônica da Faculdade Guairacá. Caderno de Ciências da Saúde, 2012

PEREIRA, V.C. Atividade agonista do extrato de *Tabebuia heptaphylla* sobre os receptores proliferadores peroxissomais alfa (PPAR $\alpha$ ), beta/ delta (PPAR $\beta/\delta$ ) e gama (PPAR $\gamma$ ). Dissertação (Mestrado), Pós-Graduação em Ciência da Saúde. Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

PERMANA,P.A. *et al.* Menge C, Reaven PD. Factores secretada por macrófagos induzir a inflamação e a resistência à insulina de adipócitos. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2006

PETERSEN, A.M. e PEDERSEN, B.K. *The anti-inflammatory effect of exercise. Journal of Applied Physiology*, 2005.

PINTO, R.J. A Função Endócrina do Tecido Adiposo. *Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba*, 2014.

PONTIROLI, A.E. *et al. In morbid obesity, metabolic abnormalities and adhesion molecules correlate with visceral fat, not with subcutaneous fat: effect of weight loss through surgery. Obesity Surgery*, 2008.

PRADO, L.W. *et al. Obesidade e Adipocinas Inflamatórias: Implicações Práticas para a Prescrição de Exercício. Rev Bras Med Esporte*, 2009.

PRADO, Wagner Luiz do et al . Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. *Rev Bras Med Esporte*, Niterói , 2009 .

PRICE R. *Genetics and common obesities: background, current status, strategies, and future prospects. Handbook for Obesity Treatment.* , 2002.

Projeto Diretrizes. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. Obesidade: Etiologia. Autoria: Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Clínica Médica , 2005. Disponível em: [http://www.projetodiretrizes.org.br/4\\_volume/22-Obesidade-etologia.pdf](http://www.projetodiretrizes.org.br/4_volume/22-Obesidade-etologia.pdf).

QUEIROZ, *et al*, 2009 Controle da adipogênese por ácidos graxos. *Bras Endocrinol Metab*, 2009.

QUEIROZ, J.C.F. *et al.* Controle da adipogênese por Ácidos graxos. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 2009.

RAMOS, A.M. *et al.* Marcadores inflamatórios da doença cardiovascular em idosos. *Arq. Bras. Cardiol.*,2009.

RAUEN, *et al.* Avaliação do estado nutricional de idosos institucionalizados. *Rev. Nutr.*, Campinas, 2008

REXRODE K.M. *et al. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. Annals of Epidemiology*, 2003.

ROGGE, B.P. *et al.* *Effect of overweight and obesity on cardiovascular events in asymptomatic aortic stenosis (a SEAS substudy).* *Journal of the American College of Cardiology.*

SAMPAIO, L.R. Avaliação nutricional e envelhecimento. *Rev. Nutr., Campinas .2004 .*

SANTOS *et al.* Estudo comparativo entre os parâmetros do perfil lipídico e IMC em pacientes atendidos no laboratório clínico da PUC Goiás. *Estudos, 2014.*

SARTORI-CINTRA, A.R. *et al.* Obesidade contra osteoartrite: Muito além da sobrecarga mecânica. *Einstein, 2014.*

SILVA, A.O. Dissertação apresentada ao programa de gerontologia da universidade católica de Brasília. Aspectos metabólicos, antropométricos e de composição corporal de idosos com e sem resistência insulínica. *Brasília, 2009.*

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

SILVEIRA, M.R *et al* , 2009. Correlação entre obesidade, adipocinas e sistema imunológico. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano, 2009.*

SILVEIRA, M.R. *et al.* Correlação entre obesidade, adipocinas e sistema imunológico *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano, 2009.*

SIPPEL *et al*, 2014. Processos inflamatórios da obesidade *Revista de Atenção à Saúde, 2014.*

SPERETTA G.F.F. *et al* 2014. Obesidade, Inflamação e Exercício: Foco Sobre o TNF- $\alpha$  e IL-10. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto, 2014.*

STADLER, *et al.* Associação dos níveis de dislipidemia entre obesidade tipo I, II e III. *Association of dyslipidemia levels among classes of obesity I, II and III. Arquivos Catarinenses de Medicina, 2011.*

STRIMBU, K. e TAVEL, J.A. *What are Biomarkers? Current Opinion in HIV and AIDS*, 2011.

SUKA, M.M.Y. *et al.* *BMI, waist circumference, and clustering of cardiovascular risk factors in Japanese adults. Environ Health Prev Med.* 2011.

TAM, C. S. *et al.* *Clement. Obesity and low-grade inflammation: a pediatric perspective. Obesity Reviews*, 2010.

TOCCI, M.J. e SCHMIDT, J.A. *Interleukin-1: Structure and function. In cytokines in health and disease, second edition*, 1997.

TRAYHURN, P. *Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat. Acta Physiologica Scandinavica*, 2005.

TRELLAKIS, S. *et al.* *Low adiponectin, high levels of apoptosis and increased peripheral blood neutrophil activity in healthy obese subjects. Obesity Facts*, 2012.

V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. *Arq. Bras. Cardiol.*, São Paulo, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0066-782X2007001500012&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2007001500012&lng=en&nrm=iso)

VENTURINI, C. D. *et al.* . Prevalência de obesidade associada à ingestão calórica, glicemia e perfil lipídico em uma amostra populacional de idosos do Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia*, 2013.

VOLPATO, S. *et al.* *Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the Women's Health and Aging Study. Circulation.* 2001

WATKINS, L.R. MAIER, S. *Cytokines and Pain. P.O.Box 133, CH-4010 Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag; 1999.*

World Health Organization (WHO). *Obesity and overweight*, 2015. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

World Health Organization (WHO). *Overweight (body mass index  $\geq 25$ ) (age-standardized estimate) Data by WHO region*, 2015. Disponível em: <http://apps.who.int/gho/data/view.main.2461A?lang=en>

XAVIER, H. T. *et al* . V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol., São Paulo , v. 101, n. 4, supl. 1, p. 1-20, 2013

YAN S.D. *et al*. *The role of tumor necrosis factor-alpha in bone reabsorption of cholesteatoma*. *Am J otolaryngol* 1991

YE, J. e MCGUINNESS, O.P. *Inflammation during obesity is not all bad: Evidence from animal and human studies*. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 2012.

YE, J. *Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance*. *International Journal of Obesity – Nature*, 2009.

ZAGO, *et al*. Efeitos do Exercício Físico no Estado Inflamatório Crônico de Baixo Grau Induzido pela Obesidade. *Revista Odontológica de Araçatuba*, 2013.

## 9. ANEXO



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

Campus Universitário - Morro do Cruzeiro  
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil  
Fone (31) 3559-1388 Fax (31) 3559-1370



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

Ilmo Sr.

Prof. Dr. Andre Talvani Pedrosa da Silva  
DECBI/ICEB/UFOP

Senhor Pesquisador,

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

Atenciosamente,

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