

António Manuel Guerra Santos Pires

DISFUNÇÃO ENDOTELIAL EM CRIANÇAS COM OBESIDADE

Tese do Programa de Doutoramento em Ciências da Saúde, ramo de Medicina, orientada pela Professora Doutora Raquel Seça e pela Professora Doutora Cristina Sena e apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Setembro 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

António Manuel Guerra Santos Pires

Disfunção endotelial em crianças com obesidade

Coimbra

2014

Trabalho realizado no Serviço de Cardiologia Pediátrica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE, no Laboratório de Fisiologia do Instituto de Imagem Biomédica e Ciências da Vida da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e no Laboratório do Instituto Português do Sangue e Transplantação de Coimbra.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de Coimbra para prestação de
provas de Doutoramento em Ciências da Saúde.

À memória dos que partiram.

Os resultados apresentados foram publicados ou submetidos a publicação em revistas indexadas, nomeadamente:

1. Obesidade: paradigma da disfunção endotelial em idade pediátrica.
Acta Médica Portuguesa (aceite para publicação).
Revista classificada no terceiro quartil da *Journal Citation Ranking*.
2. Pro-inflammatory triggers in childhood obesity: correlation between leptin, adiponectin and high-sensitivity C-reactive protein in a group of obese Portuguese children.
Rev Port Cardiol. 2014; 33(11): 691-697
Revista classificada no terceiro quartil do *Journal Citation Ranking*.
3. Insulin resistance, dyslipidaemia and cardiovascular changes in a group of obese children.
Arquivos Brasileiros de Cardiologia (aceite para publicação).
Revista classificada no terceiro quartil do *Journal Citation Ranking*.
4. Circulating progenitor endothelial cells in obese children.
Jornal de Pediatria (aceite para publicação).
Revista classificada no segundo quartil do *Journal Citation Ranking*.
5. Childhood adiposity: being male is a potential cardiovascular risk factor.
European Journal of Pediatrics (submetido para publicação).
Revista classificada no segundo quartil do *Journal Citation Ranking*.

AGRADECIMENTOS

São muitos...

Um projeto inicia-se quando existe, antes de mais, a motivação para o fazer, mas não basta. São necessários mecanismos de apoio na forma de amigos, colegas e família, que nos façam sentir, que ao longo de uma caminhada, vale a pena atingir um determinado objetivo, e, por vezes, pelos mais subtis dos gestos ou palavras.

Agradeço:

Aos pais e crianças que participaram neste projeto. Sem eles, é evidente, que a realização deste não seria possível.

Ao Dr. Eduardo Castela, diretor do Serviço de Cardiologia Pediátrica, e meu amigo, por ter impulsionado e facilitado esta trajetória. Tem sido uma pessoa chave no meu percurso profissional. Acreditou, desde sempre, nas minhas capacidades e, invariavelmente, neste projeto.

À Professora Doutora Raquel Seiça e à Professora Doutora Cristina Sena, minhas orientadoras, pelo empenhamento no desenvolvimento deste trabalho. Desde sempre foram forças motivadoras e com uma capacidade de análise crítica construtiva que, seguramente, facilitou este percurso.

À Dra. Paula Martins (será aqui a primeira vez que lhe chamo Dra., mas o rigor da ocasião assim o exige...), por simplesmente estar, e acima de tudo, saber estar. O seu apoio tem, ao longo dos anos, sido infalível.

Às Dras. Teresa Dionísio, Joana Marinho e Patrícia Vaz Silva, por terem dado um apoio incondicional na Consulta de Risco Cardiovascular, tão importante no decorrer deste desafio.

Ao técnico Helder Costa, amigo de longa data, pela sempre presente disponibilidade, que muito facilitou a realização deste projeto.

Aos demais elementos do Serviço de Cardiologia Pediátrica que, de uma forma ou outra, contribuíram para o sucesso deste empreendimento.

À Mestre Ana Margarida Ferreira pela colaboração na realização dos métodos laboratoriais, o que, indiscutivelmente, facilitou a realização deste estudo.

À Dra. Margarida Marques que pacientemente orientou a análise estatística deste projeto e, conseguiu incutir em mim, através do seu entusiasmo, o gosto pela estatística.

Ao Professor Doutor Hélder Trindade e colaboradores do Instituto Português do Sangue e Transplantação, pelo processamento de análises indispensáveis para a elaboração deste estudo.

À Dra. Isabel Albuquerque e à Dra. Lucília Araújo e demais elementos dos Laboratórios de Bioquímica, Imunologia e Hematologia do Hospital Pediátrico, CHUC, EPE, pela sempre presente disponibilidade e apoio relativo ao processamento das análises.

E por fim, à Mena, Tatiana e Marco, o melhor que a vida me deu; aos meus sogros pelo inesgotável apoio de retaguarda ao longo dos anos...e bem mais longe, à minha mãe, simplesmente por ser.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	XIX
LISTA DE FIGURAS	XXI
ABREVIATURAS.....	XXVII
RESUMO	XXXI
ABSTRACT.....	XXXV
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	1
1. OBESIDADE.....	3
1.1. Definição	3
1.2. Prevalência.....	4
1.3. Etiologia	4
2. EVOLUÇÃO PARA A DOENÇA CARDIOVASCULAR.....	7
2.1. Disfunção adipocitária	7
2.2. Disfunção endotelial	13
3. AVALIAÇÃO CLÍNICA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL	18
3.1. Avaliação morfológica.....	18
3.2. Avaliação funcional	19
4. AVALIAÇÃO ANALÍTICA DA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL.....	20
4.1. Marcadores inflamatórios.....	20
4.2. Marcadores da ativação endotelial	21
4.3. Marcadores da biodisponibilidade do óxido nítrico	21
4.4. Marcadores dos mecanismos reparadores do endotélio	22
5. OBJETIVOS	23
Objetivo principal.....	23
Objetivos secundários	23

CAPÍTULO 2: METODOLOGIA	25
1. DESENHO DO ESTUDO E SEU ENQUADRAMENTO	27
2. POPULAÇÃO DO ESTUDO E CÁLCULO DA DIMENSÃO DA AMOSTRA	27
3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	28
4. PROTOCOLO DO ESTUDO	28
5. AVALIAÇÃO CLÍNICA	28
5.1. Anamnese	28
5.2. Exame objetivo.....	29
6. AVALIAÇÃO IMAGIOLÓGICA.....	30
6.1. Ecocardiografia	30
6.2. Espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum	31
7. AVALIAÇÃO LABORATORIAL.....	32
8. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS.....	35
9. ASPETOS ÉTICOS.....	36
CAPÍTULO 3: RESULTADOS	37
ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS GRUPOS EM ESTUDO	39
1. POPULAÇÕES.....	39
2. ANTECEDENTES FAMILIARES: OBESIDADE, DIABETES MELLITUS TIPO 2, DISLIPIDÉMIA E HIPERTENSÃO ARTERIAL	40
3. ANTECEDENTES PRÉ-NATAIS, PERINATAIS E NEONATAIS	40
4. PESO DE NASCENÇA E RESSALTO ADIPOCITÁRIO.....	40
5. ESTILOS DE VIDA.....	41
6. ÍNDICE DE MASSA CORPORAL, PERCENTAGEM DE MASSA GORDA E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL	42
7. ACANTOSE NIGRICANS	44
8. PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA E DIASTÓLICA	45
9. AVALIAÇÃO ANALÍTICA	48
9.1. Perfil lipídico	48

9.2. Glicose, insulina e índice de insulino-resistência.....	52
9.3. Adipocinas e marcadores inflamatórios	54
9.4. E-selectina	57
9.5. Dimetilarginina assimétrica e número de células progenitoras endoteliais circulantes	59
10. AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA DO VENTRÍCULO ESQUERDO: GEOMETRIA VENTRICULAR.....	62
11. ESPESSURA DA CAMADA ÍNTIMA-MÉDIA DA ARTÉRIA CARÓTIDA COMUM.....	66
CORRELAÇÕES	69
1. ÍNDICES DE ADIPOSIDADE	70
1.1. Correlação entre os índices de adiposidade e a pressão arterial	73
1.2. Correlação entre os índices de adiposidade e os lípidos	75
1.3. Correlação entre os índices de adiposidade e as lipoproteínas plasmáticas.....	78
1.4. Correlação entre os índices de adiposidade e o índice de insulino- resistência.....	80
1.5. Correlação entre os índices de adiposidade e as adipocinas.....	82
1.6. Correlação entre os índices de adiposidade e os marcadores inflamatórios	86
1.7. Correlação entre os índices de adiposidade e a E-selectina	87
1.8. Correlação entre os índices de adiposidade com a dimetilarginina assimétrica e o número de células progenitoras endoteliais circulantes.....	89
1.9. Correlação entre os índices de adiposidade e os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo	92
1.10. Correlação entre os índices de adiposidade e a geometria ventricular	95
1.11. Correlação entre os índices de adiposidade e a espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum	97
2. ADIPOCINAS	99
2.1. Correlação entre as adipocinas e a pressão arterial.....	101
2.2. Correlação entre as adipocinas e os lípidos e as lipoproteínas	103
2.3. Correlação entre as adipocinas e o índice de insulino-resistência	106
2.4. Correlação entre as adipocinas e os marcadores inflamatórios.....	108

2.5. Correlação entre as adipocinas e a E-selectina.....	110
2.6. Correlação entre as adipocinas e a dimetilarginina assimétrica e o número de células progenitoras endoteliais circulantes.....	110
2.7. Correlação entre as adipocinas e os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo e a geometria ventricular	112
2.8. Correlação entre as adipocinas e a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum	112
3. MARCADORES INFLAMATÓRIOS	113
3.1. Correlação entre os marcadores inflamatórios e a pressão arterial	115
3.2. Correlação entre os marcadores inflamatórios e os lípidos e as lipoproteínas.....	116
3.3. Correlação entre os marcadores inflamatórios e o índice de insulino-resistência..	117
3.4. Correlação entre os marcadores inflamatórios e a E-selectina, a dimetilarginina assimétrica e o número de células progenitoras endoteliais circulantes.....	118
3.5. Correlação entre os marcadores inflamatórios e os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo e a geometria ventricular	119
3.6. Correlação entre os marcadores inflamatórios e a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum	119
4. CORRELAÇÕES ENTRE A E-SELECTINA, A DIMETILARGININA ASSIMÉTRICA E O NÚMERO DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS CIRCULANTES	120
5. VALORES PREDITIVOS: MARCADORES DE ADIPOSIDADE E COMORBILIDADES DA OBESIDADE.....	121
5.1. Marcadores de adiposidade e hipertensão arterial sistólica.....	122
5.2. Marcadores de adiposidade e insulino-resistência	123
5.3. Marcadores de adiposidade e dislipidemia	125
5.3.1. Marcadores de adiposidade e lipoproteína de alta densidade	125
5.3.2. Marcadores de adiposidade e lipoproteína de baixa densidade.....	126
5.3.3. Marcadores de adiposidade e triglicerídeos	127
CAPÍTULO 4: DISCUSSÃO.....	129
1. INTRODUÇÃO	131
2. OBESIDADE: O PESO DA HEREDITARIEDADE E OS ESTILOS DE VIDA.....	131

3. PESO À NASCENÇA E RESSALTO ADIPOCITÁRIO: MARCADORES PRECOSES DE RISCO CARDIOVASCULAR?.....	132
4. ADIPOSIDADE, ADIPOCINAS E INFLAMAÇÃO	134
5. ATIVAÇÃO ENDOTELIAL E MECANISMOS REPARADORES DO ENDOTÉLIO	137
6. AS COMORBILIDADES.....	141
6.1. Insulino-resistência	141
6.2. Hipertensão arterial sistêmica (sistólica).....	144
6.3. Dislipidemia.....	146
6.4. Síndrome metabólica	149
6.5. Hipertrofia ventricular esquerda e geometria ventricular	150
6.6. Alterações vasculares: a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum	152
CAPÍTULO 5: CONCLUSÕES	155
CAPÍTULO 6: REFERÊNCIAS.....	159

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Diferenças no género e idade puberal entre o grupo de crianças obesas e não-obesas.....	39
Tabela 2- Níveis séricos dos lípidos e lipoproteínas nos grupos obeso e controlo.....	48
Tabela 3- Prevalência de níveis séricos dos lípidos acima da normalidade nos grupos obeso e controlo.....	49
Tabela 4- Níveis séricos dos lípidos e lipoproteínas dos grupos obeso e controlo em função do género.....	50
Tabela 5- Níveis séricos dos lípidos e lipoproteínas dos grupos obeso e controlo em função da idade puberal.....	51
Tabela 6- Glicémia e insulinémia nos grupos obeso e controlo.....	52
Tabela 7- Níveis séricos de adipocinas e marcadores inflamatórios dos grupos de crianças obesas e não-obesas	54
Tabela 8- Correlações entre os marcadores da adiposidade e os parâmetros estudados	72
Tabela 9- Correlações entre as adipocinas e os parâmetros estudados.....	100
Tabela 10- Correlações entre os marcadores inflamatórios e os parâmetros estudados	114

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Esquema representativo do tecido adiposo normal e hipertrofiado e respetivo perfil metabólico/clínico.....	8
Figura 2- Esquema representativo da relação entre a disfunção adipocitária e endotelial.....	16
Figura 3- Imagem ecográfica da artéria carótida comum ilustrando a avaliação da espessura da camada intima-média.....	32
Figura 4- Ressalto adipocitário nos grupos obeso e controlo	41
Figura 5- Índice de massa corporal, percentagem de massa gorda e circunferência abdominal nos grupos obeso e controlo.....	42
Figura 6- Índice de massa corporal, percentagem de massa gorda e circunferência abdominal em função do género	43
Figura 7- Índice de massa corporal, percentagem de massa gorda e circunferência abdominal em função da faixa etária.....	44
Figura 8-Pressão arterial sistólica e diastólica dos grupos obeso e controlo.....	45
Figura 9- Pressão arterial sistólica e diastólica dos grupos de crianças obesas e não-obesas em função do género	46
Figura 10- Pressão arterial sistólica e diastólica dos grupos de crianças obesas e não-obesas em função da idade puberal	47
Figura 11- Índice de insulino-resistência nos grupos obeso e controlo.....	53
Figura 12- Índice de insulino-resistência em função do género e idade puberal	53
Figura 13- Níveis séricos de leptina e de adiponectina em função do género e idade puberal.....	55
Figura 14- Níveis séricos da proteína C-reativa ultra-sensível(PCRus) em função do género e da idade puberal.....	56
Figura 15-Níveis séricos de E-selectina.....	57
Figura 16- Níveis séricos de E-Selectina em função do género e da idade puberal.	58
Figura 17- Níveis séricos da dimetilarginina assimétrica nos grupos obeso e controlo	59
Figura 18-Níveis séricos de dimetilarginina assimétrica em função do género e da idade puberal.....	60

Figura 19- Número de células progenitoras endoteliais circulantes.....	61
Figura 20- Número de células progenitoras endoteliais circulantes em função do gênero e da idade puberal.....	61
Figura 21- Diâmetros ecocardiográficos em Modo-M do ventrículo esquerdo.....	63
Figura 22- Diâmetros ecocardiográficos, em modo-M, do ventrículo esquerdo, em função do gênero e da idade puberal	64
Figura 23- Índice de massa ventricular esquerda, dos grupos obeso e controlo em função da idade puberal e do gênero	65
Figura 24- Espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum dos grupos obeso e controlo em função da idade puberal.e do gênero.....	67
Figura 25- Intercorrelação entre os marcadores de adiposidade: índice de massa corporal, percentagem de massa gorda e circunferência abdominal.....	71
Figura 26- Correlação entre a circunferência abdominal e a pressão arterial sistólica e diastólica.....	73
Figura 27- Correlações entre índice de massa corporal, a circunferência abdominal e a pressão arterial sistólica e diastólica em função do gênero	74
Figura 28- Correlação entre a lipoproteína de alta densidade e o índice de massa corporal e a circunferência abdominal.....	76
Figura 29- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com a lipoproteína de alta densidade.....	77
Figura 30- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com o rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I	79
Figura 31- Correlação entre o índice de massa corporal e o índice de insulino-resistência.....	80
Figura 32- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com o índice de insulino-resistência	81
Figura 33- Correlação entre a percentagem de massa gorda e a leptina.	82
Figura 34- Correlação entre a circunferência abdominal e a adiponectina.....	83
Figura 35- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com a leptina.....	84

Figura 36- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e circunferência abdominal com a adiponectina.....	85
Figura 37-Correlação entre a percentagem de massa gorda com a proteína C-ultra-sensível	86
Figura 38- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com a proteína C-reativa ultra-sensível	87
Figura 39-Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com a E-selectina.....	88
Figura 40- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com a dimetilarginina assimétrica	90
Figura 41- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com o número de células progenitoras endoteliais circulantes.....	91
Figura 42- Correlação entre o índice de massa corporal e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo.....	92
Figura 43- Correlações entre o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal com o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo .	94
Figura 44-Correlações entre a massa ventricular esquerda e o índice de massa ventricular esquerda com o índice de massa corporal	95
Figura 45-Correlações entre o índice massa corporal com a massa ventricular esquerda e o índice de massa ventricular esquerda em função do género.	96
Figura 46- Correlação entre a espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum e a circunferência abdominal	97
Figura 47-Correlação entre a espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum e a circunferência abdominal no grupo de rapazes	98
Figura 48- Correlação entre a adiponectina e a pressão arterial sistólica	101
Figura 49- Correlações entre a leptina e a adiponectina com a pressão arterial sistólica e diastólica nos rapazes.....	102
Figura 50- Correlações entre a adiponectina e a lipoproteína de alta densidade e entre a leptina e a apolipoproteína B	103

Figura 51- Correlações entre a adiponectina e a lipoproteína de alta densidade e entre a leptina e a lipoproteína de baixa densidade no grupo dos rapazes.....	104
Figura 52- Correlações entre a leptina e a apolipoproteína B e entre a adiponectina e a apolipoproteína A-I no grupo dos rapazes	105
Figura 53- Correlação entre a leptina e o índice de insulino-resistência	106
Figura 54- Correlações entre a leptina e a adiponectina e o índice de insulino-resistência, em função do gênero	107
Figura 55- Correlação entre a leptina e a proteína C-reativa ultra-sensível	108
Figura 56- Correlação entre a leptina e a proteína C-reativa ultra-sensível em função do gênero.....	109
Figura 57- Correlação entre a leptina e a E-selectina no grupo dos rapazes.....	110
Figura 58- Correlação entre a leptina e a dimetilarginina assimétrica no grupo das raparigas.	111
Figura 59- Correlação entre a leptina e o número de células progenitoras endoteliais circulantes em função do gênero	111
Figura 60- Correlação entre a proteína quimioatrativa dos monócitos e a pressão arterial sistólica em função do gênero	115
Figura 61- Correlação entre a proteína C-reativa ultra-sensível com o rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I em função do gênero.....	116
Figura 62- Correlação entre a proteína C-reativa ultra-sensível e o índice de insulino-resistência.....	117
Figura 63- Correlação entre a proteína C-reativa ultra-sensível com a E-selectina e o número de células progenitoras endoteliais circulantes em função do gênero.....	118
Figura 64- Correlação entre a proteína quimioatrativa dos monócitos e o número de células progenitoras endoteliais circulantes em função do gênero	119
Figura 65- Correlações entre a E selectina e a dimetilarginina assimétrica e o número de células progenitoras endoteliais circulantes em função do gênero	120
Figura 66- Valores preditivos do índice de massa corporal, da percentagem de massa gorda e da circunferência abdominal, baseado na área sob a curva de ROC, em relação à hipertensão arterial sistólica.	122

Figura 67- Valor preditivo do índice de massa corporal, da percentagem de massa gorda e da circunferência abdominal, baseado na área sob a curva de ROC, em relação à insulino-resistência.....	123
Figura 68- Valor preditivo do índice de massa corporal, da percentagem de massa gorda e da circunferência abdominal, baseado na área sob a curva de ROC, em relação à lipoproteína de alta densidade.....	125
Figura 69- Valor preditivo do índice de massa corporal, da percentagem de massa gorda e da circunferência abdominal, baseado na área sob a curva de ROC, em relação à lipoproteína de baixa densidade.	126
Figura 70- Valor preditivo do índice de massa corporal, da percentagem de massa gorda e da circunferência abdominal, baseado na área sob a curva de ROC, em relação aos triglicérides.....	127

ABREVIATURAS

%MG	Percentagem de massa gorda
ADMA	Dimetilarginina assimétrica
ApoA-I	Apolipoproteína A-I
ApoB	Apolipoproteína B
ApoB/ApoA-I	Rácio Apolipoproteína B/ Apolipoproteína A-I
CAbd	Circunferência abdominal
CAC	Células angiogénicas circulantes
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CHUC	Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra
cIMT	Espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum
CT	Colesterol total
DCV	Doença cardiovascular
DDVE	Diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo
DSVE	Diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo
Eco	Ecocardiografia
EDTA	Ácido etilendiamino <i>tetra-acético</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
eNOS	Óxido nítrico síntetase endotelial
EPCs	Células progenitoras endoteliais circulantes
EPM	Erro padrão da média
ERP	Espessura relativa da parede
ET-1	Endotelina-1
FTO gene	<i>Fat mass and obesity associated gene</i>
HDL-C	Lipoproteína de alta densidade

HOMA -IR	<i>Homestasis model assessment-insulin resistance</i>
HPC	Hospital Pediátrico de Coimbra
HTA	Hipertensão arterial
IBILI	Instituto de Imagem Biomédica e Ciências da Vida
ICAM	Moléculas de adesão intercelular
IL	Interleucina
IMC	Índice de massa corporal
IMVE	Índice de massa ventricular esquerda
IR	Insulino-resistência
LDL-C	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-oxidada	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
Lp(a)	Lipoproteína (a)
MAPK	<i>mitogen –activated protein kinase</i>
MCP-1	Proteína quimioatrativa dos monócitos-1
MCR4	Receptor da melanocortina- 4
MVE	Massa do ventrículo esquerdo
NO	Óxido nítrico
NS	valor-p não significativo
OECD	<i>Organization for Economic Cooperation and Development</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
P5-85	Percentil 5-85
P85-90	Percentil 85-90
P95	Percentil 95
PA	Pressão arterial
PA _d	Pressão arterial diastólica
PA _s	Pressão arterial sistólica

PAI-1	Inibidor do ativador de plaminogéneo
PCR	Proteína C-reativa
PCRus	Proteína C-reativa ultra-sensível
PN	Peso à nascença
PPVE	Diâmetro diastólico da parede livre do ventrículo esquerdo
PVAT	Tecido adiposo perivascular
PVRF	<i>Perivascular-derived relaxing factor</i>
RCV	Risco cardiovascular
RN	Recém-nascido
ROS	Espécies reativas de oxigénio
SIV	Diâmetro diastólico do septo interventricular
Smet	Síndrome metabólica
T4	Tiroxina
TA	Tecido adiposo branco
TG	Triglicerídeos
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
TNF α	Fator de necrose tumoral- α
TSH	Hormona estimulante da tiróide
Valor-p	Nível de significância
VCAM-1	Moléculas de adesão das células vasculares
VE	Ventrículo esquerdo
VOP	Velocidade de onda de pulso

RESUMO

INTRODUÇÃO

A obesidade caracteriza-se por um processo pró-inflamatório crónico que resulta na lesão do endotélio. O consequente desequilíbrio na produção de mediadores que normalmente regulam a homeostasia vascular, particularmente a biodisponibilidade do óxido nítrico, favorece um ambiente pró-aterosclerótico propício ao desenvolvimento da doença cardiovascular. Estudos anatomo-patológicos em crianças com excesso de peso, evidenciam lesões do endotélio que se traduzem nos precursores da lesão aterosclerótica.

No entanto, as repercussões metabólicas e cardiovasculares raramente são sintomáticas em idade pediátrica, sendo detectadas apenas através de biomarcadores ou alterações morfológicas do coração e dos vasos.

OBJETIVO

Este projecto teve como objectivo avaliar clínica,analítica e imagiologicamente alterações precoces sugestivas de disfunção endotelial e a sua intercorrelação em crianças com obesidade, seguidas na Consulta de Risco Cardiovascular do Serviço de Cardiologia Pediátrica do Hospital Pediátrico de Coimbra, possibilitando a caracterização da nossa população obesa pediátrica, contribuindo, assim, para a prevenção da doença cardiovascular associada à obesidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

Realizámos um estudo observacional e transversal, realizado num coorte de crianças com obesidade, seguidas na Consulta de Risco Cardiovascular do Serviço de Cardiologia Pediátrica do HPC-CHUC,EPE. Foram incluídas neste estudo 120 crianças com obesidade, de ambos os sexos, com idades compreendidas entre os 6 e 17 anos. Para efeitos comparativos, foi incluído um grupo controlo composto por 41 crianças com um índice de massa corporal normal.

As variáveis analisadas foram: idade, género, índices de adiposidade (índice de massa corporal, circunferência abdominal e percentagem de massa gorda), parâmetros

hematológicos e bioquímicos, função tiroideia, função renal, insulina, índice de insulino-resistência, adipocinas (leptina e adiponectina), marcadores inflamatórios (proteína C-reativa ultrasensível, proteína quimioatrativa dos monócitos-1), E-selectina, dimetilarginina assimétrica, número de células progenitoras circulantes, lípidos e lipoproteínas plasmáticas, diâmetros ecocardiográficos de ventrículo esquerdo, massa ventricular esquerda, espessura relativa da parede, índice de massa ventricular esquerda e espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum.

Os parâmetros e as suas relações estatísticas foram analisados através do programa estatístico SPSS® 20.0, com um nível de significância de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Para além dos parâmetros hematológicos, ionograma, transaminases, função renal e tiroideia, todos os outros parâmetros analisados apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em estudo, superiores no grupo obeso, excetuando a lipoproteína de alta densidade, mais baixa neste estudo.

Na generalidade, verificámos correlações significativas entre os índices de adiposidade, adipocinas e marcadores inflamatórios com os lípidos e lipoproteínas plasmáticas, índice de insulino-resistência, diâmetros ecocardiográficos de ventrículo esquerdo, massa ventricular esquerda, índice de massa ventricular esquerda, espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum e com os marcadores de ativação endotelial, particularmente no grupo de rapazes.

Evidenciámos que o número de células progenitoras endoteliais circulantes está aumentado na população obesa com evidência de ativação endotelial.

Observámos correlações entre estes parâmetros e as comorbilidades da obesidade, nomeadamente, insulino-resistência, hipertensão arterial, dislipidémia e hipertrofia ventricular esquerda.

CONCLUSÃO

Podemos aferir pelos resultados obtidos que a nossa população pediátrica obesa e particularmente o género masculino apresenta, precocemente, um perfil pró-aterogénico. Comorbilidades como hipertensão arterial, dislipidémia, insulino-resistência e hipertrofia ventricular esquerda excêntrica potenciam e reforçam este perfil.

Apesar de se ter evidenciado um padrão sugestivo de disfunção endotelial, o número de células progenitoras endoteliais circulantes é superior nas crianças obesas sugerindo que, neste grupo, os mecanismos reparadores do endotélio se mantêm íntegros. Como tal, esta faixa etária, ainda apresenta uma janela de oportunidade para reverter a subjacente disfunção endotelial, através de modificações de estilos de vida.

ABSTRACT

INTRODUCTION

Obesity is characterized by a chronic, low grade, pro-inflammatory process that ultimately results in endothelial dysfunction.

The ensuing imbalance in the synthesis of mediators that normally regulate vascular homeostasis, particularly nitric oxide (NO) bioavailability favor a pro-atherosclerotic status that contributes towards adult cardiovascular disease.

Anatomopathological studies in children with excess weight have shown endothelial changes that represent the precursors of the atherosclerotic lesion.

Although the impact of endothelial dysfunction rarely manifest clinically during infancy, evidence of endothelial activation is provided through biomarkers, as well as, related cardiac and vascular morphological changes.

AIM

This project aims at evaluating the implications of obesity on biomarkers related to adipocyte and endothelial dysfunction, as well as, the subjacent cardiac and vascular morphological modifications in a group of obese children followed up at the Department of Paediatric Cardiology of Coimbra's Paediatric Hospital. It will, thus, permit the characterization of our paediatric obese population and contribute towards the prevention of obesity related cardiovascular disease.

MATERIAL AND METHODS

We carried out an observational and transversal analysis in a cohort of obese children, followed up at the Cardiovascular Clinic of the Department of Paediatric Cardiology of Coimbra's Paediatric Hospital-CHUC, EPE. One hundred and twenty children of both sexes, between the ages of 6 and 17 years were included. The control group was made of 41 children with normal body mass index.

The variables analysed were: age, gender, adiposity indices (body mass index, abdominal circumference, and fat mass percentage), haematological and biochemical parameters, thyroid function tests, transaminases, renal function, insulin, homeostasis

model assessment-Insulin resistance, adipokines (leptin and adiponectin), inflammatory markers (ultra-sensitive C-reactive protein and monocyte chemoattractant protein-1), E-selectin, asymmetric dimethylarginine, circulating endothelial progenitor cells, lipids and plasma lipoproteins, left ventricular echocardiographic diameters, left ventricular geometry and common carotid artery intima-media thickness.

The above parameters and its statistical relationship were analyzed using the SPSS® 20.0 statistics program, using a level of significance of $p < 0.05$.

RESULTS

Analytically, there were no differences between both groups as far as the full blood count, baseline biochemical profile, thyroid function, transaminases and renal function. All the other parameters included in the study showed statistically significant differences, all higher in the obese group, with the exception of high density lipid cholesterol, which was lower in the obese group.

Overall, we found significant correlations between adiposity indices, adipokines and inflammatory markers with lipids, plasma lipoproteins, insulin resistance index, left ventricular diameters, left ventricular mass, left ventricular mass index, common carotid artery intima-media thickness and markers of endothelial activation, particularly in boys.

We also showed that, in obese children with evidence of endothelial activation, the number of circulating endothelial progenitor cells is raised.

We observed significant correlations between these parameters and the comorbidities of obesity, namely, insulin resistance, arterial hypertension, dyslipidaemia and left ventricular hypertrophy.

CONCLUSION

From our results, we can infer that our paediatric obese population and, particularly the male gender, presents, at an early stage, a pro- atherogenic profile. Comorbidities such as arterial hypertension, dyslipidaemia, insulin-resistance and eccentric left ventricular hypertrophy reinforce this profile.

Although we found evidence of endothelial dysfunction, the number of endothelial progenitor cells was raised, implying that endothelial repairing mechanisms are intact. As such, this stage still provides a window of opportunity to reverse the underlying endothelial damage through life style modifications.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. OBESIDADE

1.1. Definição

A obesidade define-se como o excesso de tecido adiposo e é um fator de risco cardiovascular (RCV) independente^{1,2}. Considerada uma doença crónica, condiciona um aumento da mortalidade e da morbilidade global face às patologias associadas, incluindo, hipertensão arterial, dislipidémia, diabetes *mellitus* tipo 2, doença coronária e alguns tipos de cancro. Dada a dificuldade em avaliar diretamente a gordura corporal, esta é estimada indiretamente através de métodos antropométricos, nomeadamente o Índice de Massa Corporal (IMC). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em idade pediátrica, a obesidade define-se como um IMC superior ao percentil 95 (P95) para o género e a idade³. No entanto, não é o excesso de peso, mas sim o excesso de gordura e a sua distribuição corporal que se relacionam com as comorbilidades associadas à obesidade⁴. A obesidade, como referido, é considerada atualmente um fator independente de RCV. Estima-se que o risco relativo de morte cardiovascular por cada $1\text{Kg}/\text{m}^2$ (> IMC de 21) seja 1,10 e 1,08 para homens e mulheres adultos, respetivamente⁵. A obesidade em adolescentes é um forte preditor de doença coronária em adultos, independente de serem adultos obesos. Implicitamente, a obesidade infantil, se mantida, poderá condicionar alterações vasculares permanentes com repercussões nefastas na vida adulta.

Genericamente a obesidade classifica-se em dois sub-tipos: obesidade andróide (abdominal, visceral ou central) e ginóide (glúteo-femoral), sendo a obesidade central aquela que é considerada um importante fator de risco na progressão para a doença cardiovascular (DCV). Daí a necessidade de introduzirmos outras medidas que espelhem mais adequadamente a adiposidade e a sua distribuição, tal como a circunferência abdominal (CAbd). Esta, sendo independente da estatura, reflete a quantidade de massa gorda intra-abdominal. Uma das consequências da obesidade é o desenvolvimento da síndrome metabólica, onde a CAbd e não o IMC faz parte dos critérios de diagnóstico.

Apesar das limitações do IMC, na população obesa existe uma correlação entre este e a percentagem de gordura corporal e o risco de DCV⁶. Como tal, o IMC é

considerado uma ferramenta útil e prática, permite estabelecer padrões e continua a ser a medida de referência não só no seguimento das crianças obesas mas também em estudos epidemiológicos.

1.2. Prevalência

A obesidade é considerada pela OMS como a epidemia do 3º milénio, não só pela sua crescente prevalência mas pelo facto de se tratar de uma doença universal, não limitada apenas aos países desenvolvidos⁶. Pela primeira vez, na história da humanidade, o número de pessoas com excesso de peso ultrapassou o de pessoas com desnutrição. Estima-se que cerca de 10% da população pediátrica mundial apresente excesso de peso ou obesidade e que cerca de 40% sejam obesas na vida adulta⁷. Atualmente, em Portugal, não existe nenhum estudo publicado sobre a prevalência de excesso de peso e obesidade em idades pediátricas, que tenha representatividade nacional. Uma análise de vários estudos, com metodologias diferentes, incluindo os critérios para classificação do excesso de peso e obesidade, mostrou que, globalmente, nos rapazes, a prevalência do excesso de peso variou entre 8,6% e 25,7% e a da obesidade entre 4,4% e 26%. Nas raparigas, a prevalência do excesso de peso variou entre 9,6% e 35% e a da obesidade entre 3,8% e 20%⁸. Segundo dados fornecidos pela *Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)* os valores relativos ao excesso de peso (incluindo obesidade) em Portugal, na faixa etária entre os 5 e 17 anos, encontram-se acima da média em relação a praticamente todos os países da União Europeia, especificamente 23,5% nos rapazes e 21,6% nas raparigas.

1.3. Etiologia

A obesidade é uma doença multifactorial que pressupõe a interação entre fatores genéticos, sociais e ambientais. Na maioria dos casos resulta de um desequilíbrio entre a ingestão calórica e o gasto energético, condicionando o armazenamento excessivo de energia na forma de gordura.

O peso tem alto potencial hereditário, sendo que, em famílias em que a obesidade é patente, a transmissão desta característica é de 40-70%, implicando uma penetrância incompleta⁹. Apesar de raras, algumas alterações genéticas específicas

associam-se à obesidade, como é o caso das mutações do gene MCR4 (receptor de melanocortina- 4)¹⁰, presente em cerca de 1% a 2,5% da população com IMC superior a 30, ou dos polimorfismos genéticos, nomeadamente do gene FTO, em que a sua sobre-expressão predispõem para a obesidade¹¹⁻¹³. Estas alterações genéticas têm todas em comum, como manifestação clínica, a hiperfagia, estando implicada uma possível alteração nas vias de sinalização da leptina, uma hormona do tecido adiposo com uma ação central no controlo do apetite. Para além disso, são conhecidas algumas síndromes, como por exemplo a síndrome de Prader-Willi, em que o componente obesidade é característico. A própria distribuição regional do tecido adiposo aparenta estar sob controlo genético, tendo sido identificados, até à data, alguns polimorfismos que favorecem a acumulação de tecido adiposo visceral, particularmente no sexo feminino^{14,15}.

Diversos agentes ambientais contribuem para o desenvolvimento da obesidade, sobretudo hábitos alimentares inadequados e estilos de vida sedentários. É conhecida a relação entre a obesidade na adolescência e a ingestão de bebidas com elevado índice glicémico, assim como a reduzida atividade física¹⁶. Outro fator ambiental de relevo é o excessivo tempo de ecrã despendido, particularmente a ver televisão. Esta atividade está comprovada como sendo diretamente relacionada com uma maior prevalência de obesidade¹⁷. Estima-se, a longo prazo, que por cada 2 horas passadas a ver televisão o risco de se vir a ser obeso aumenta 23% e o de diabetes *mellitus* tipo 2, 14%¹⁸.

Fatores maternos durante a gravidez revestem-se de particular interesse neste contexto, nomeadamente o tabagismo e a diabetes gestacional, situações associadas a uma maior incidência de obesidade infantil^{19, 20}. Relativamente ao peso de nascença (PN), os recém-nascidos com excesso de peso (> 4Kg) têm uma maior incidência de obesidade na vida adulta²¹. O baixo peso à nascença (< 2,5Kg) é também considerado um fator de risco cardiovascular, associando-se a uma maior incidência de doença coronária na vida adulta²². Nestes recém-nascidos, estima-se que, por cada quilograma de PN a mais, o risco de doença coronária no adulto diminuía 20%. Alguns estudos não- invasivos realizados em recém-nascidos de mães com dislipidemia e diabetes mostram alterações sugestivas de lesões ateroscleróticas precoces^{23,24}.

A alimentação dos recém-nascidos e lactentes tem efeitos a longo prazo relativamente à incidência de obesidade nos adolescentes. Neste contexto, o leite materno e a duração do aleitamento aparentam ter um efeito protetor relativo aos leites adaptados²⁵. A própria evolução do IMC durante a infância aparenta contribuir para a obesidade na vida adulta. Esta evolução apresenta um padrão típico: tem uma aceleração rápida até ao 1º ano de vida, depois diminui progressivamente atingindo um valor mínimo entre os 5 e os 6 anos de idade, e depois aumenta novamente de forma gradual. A esta última transição atribui-se o nome de *ressalto adipocitário* e quanto mais precoce maior a probabilidade de se vir a ser obeso na idade adulta^{26,27}.

Face a estes achados torna-se cada vez mais evidente que a exposição a fatores ambientais e nutricionais nocivos durante períodos críticos do crescimento, particularmente no decorrer da gestação e durante a infância precoce, favorecem mecanismos adaptativos predispondo à obesidade²⁸. No entanto, perante uma criança obesa deve-se pesquisar outras possíveis causas, particularmente doenças do foro genético (< 1%), endócrino (< 1%) ou psiquiátrico. Outras situações a ponderar incluem fármacos (antidepressivos), privação do sono, rede social (amigos, familiares obesos), fatores socioeconómicos (estrato social baixo) e étnicos e agentes virusais (Ex. adenovírus 36)²⁹.

A evolução para a cronicidade e o potencial patológico na vida adulta relacionam-se principalmente com a existência de um familiar adulto obeso, idade da criança (quanto mais tardio o diagnóstico de obesidade maior a probabilidade de ser um adulto obeso) e a gravidade da obesidade^{30,31}.

2. EVOLUÇÃO PARA A DOENÇA CARDIOVASCULAR

2.1. Disfunção adipocitária

O tecido adiposo branco (TA) é um órgão endócrino, composto, entre outras células, por adipócitos. O TA produz inúmeras substâncias bioativas, coletivamente designadas de adipocinas. O TA tem ações metabólicas, endócrinas e imunológicas importantes e as suas células expressam e segregam diversas proteínas da fase aguda e mediadores da inflamação, tais como, o *fator de necrose tumoral* (TNF- α), as *interleucinas* (IL-6, IL-8 e IL-10), o *inibidor do ativador do plasminogéneo* (PAI-1), o *angiotensinogéneo*, a *leptina*, a *adiponectina*, a *resistina*, a *lipoproteína lipase* e os *ácidos gordos livres*⁵. Estes produtos de secreção, influenciam múltiplos processos fisiológicos contribuindo para o balanço energético, o metabolismo lipídico e glicídico, a ação da insulina, a angiogénese e a remodelação vascular, a pressão arterial e a coagulação³².

Os restantes elementos celulares, para além dos adipócitos, constituem a fração vascular e do estroma composta por fibroblastos, pré-adipócitos, respetivo suporte vascular e macrófagos. Os macrófagos representam cerca de 10% da celularidade do TA, podendo atingir 60% da massa celular na obesidade. Têm origem na medula óssea e o seu número está diretamente relacionado com a adiposidade³³.

O aumento da adiposidade, sobretudo a visceral, e particularmente por hipertrofia dos adipócitos, tem como consequência a desregulação metabólica destas células que resulta na infiltração de macrófagos e expressão de variados mediadores inflamatórios, que se potenciam mutuamente, e que contribuem para o processo inflamatório crónico de baixo grau que caracteriza a obesidade (Figura 1).

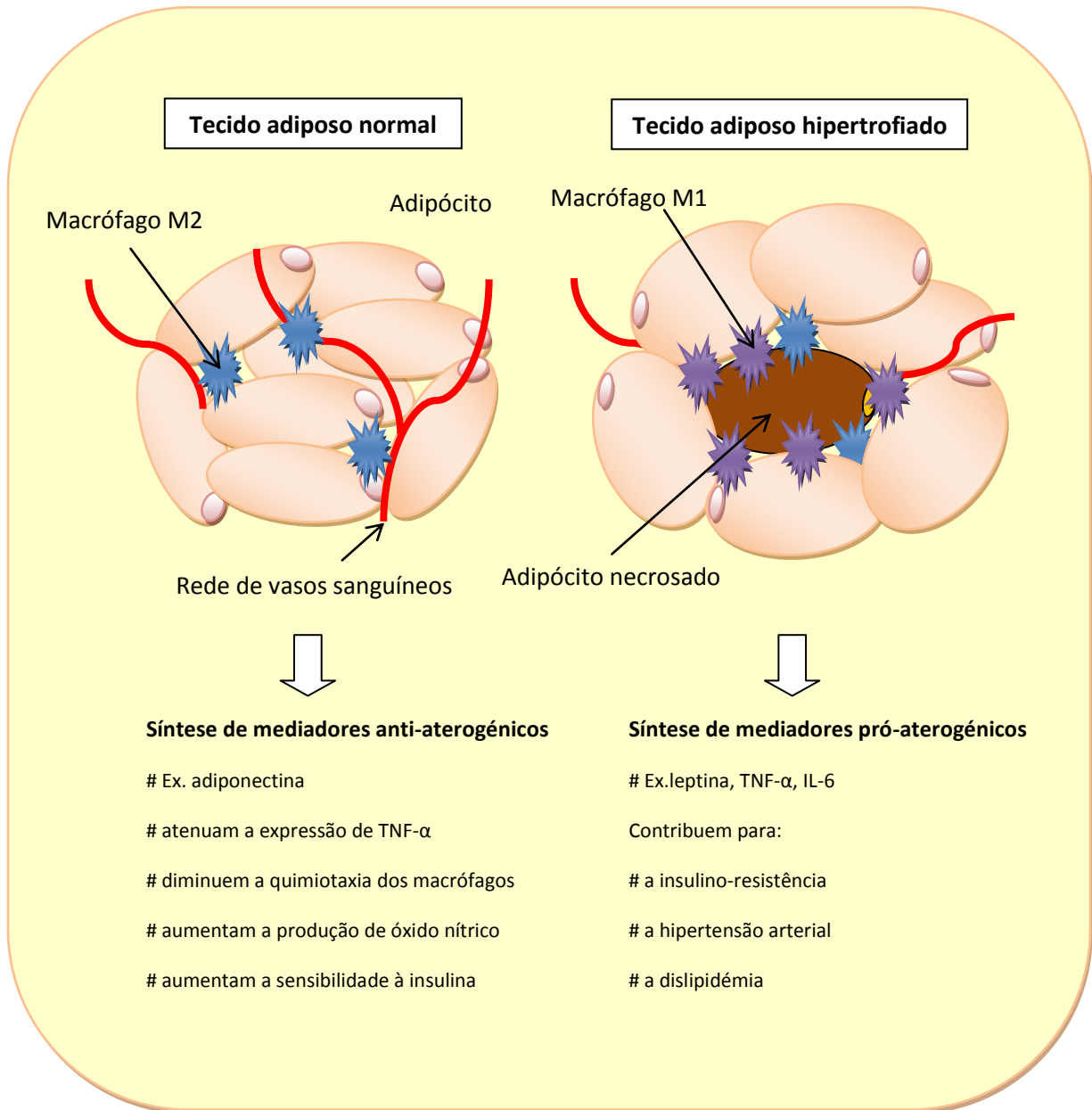


Figura 1- Esquema representativo do tecido adiposo normal e hipertrofiado e respetivo perfil metabólico/clínico. Ao contrário do tecido adiposo normal, o tecido adiposo hipertrofiado expressa substâncias bioativas que contribuem para as comorbilidades da obesidade.

TNF- α , fator de necrose tumoral; IL-6, interleucina-6.

No entanto, não é apenas a gordura visceral que está relacionada com o risco cardiovascular. Mais recentemente, o tecido adiposo perivascular (PVAT) tem sido alvo de interesse neste contexto face às suas características biológicas, relação íntima com os vasos (adjacente à túnica adventícia, salvo na circulação cerebral) e regulação da função vascular. O PVAT difere do TA quer pelas suas origens, quer pela sua composição. Dependendo da localização, o PVAT pode ser misto (tecido adiposo branco e castanho: aorta) ou composto apenas por tecido adiposo branco (artérias mesentéricas), tendo os adipócitos características morfológicas relacionadas com esta distribuição. Neste tecido adiposo encontram-se outros elementos celulares como é o caso dos macrófagos. Também a vascularização do PVAT varia consoante o local, o que explica diferentes características funcionais em diversos leitos arteriais. À semelhança do TA, produz substâncias vasoativas importantes na função vascular, que atuam por via parácrina³⁴. Apesar de ter um perfil secretor potencialmente pró-inflamatório pelas citocinas que produz (IL-6; proteína quimioatrativa de monócitos-1- MCP-1) e a baixa expressão de adiponectina, o seu maior contributo relaciona-se com o seu efeito vasodilatador. Estudos em modelos animais, por vezes contraditórios, mostram que o efeito pró-contrátil parece ser mediado por variadas substâncias (ex. leptina, angiotensina). No entanto, ainda não foi identificada a molécula anticontrátil com ação direta no vaso, atualmente denominada *perivascular-derived relaxing factor* (PVRF). O PVAT também contribui para a proliferação e migração do músculo liso da parede vascular, fator de relevo na formação da placa aterosclerótica³⁵.

Na obesidade, o aumento do PVAT correlaciona-se com o aumento do TA visceral e com as comorbilidades da obesidade, tais como, hipertensão arterial, resistência à insulina e diabetes. Subjacente, está implícita a desregulação metabólica do PVAT por mecanismos semelhantes à desregulação do TA, resultando na libertação de citocinas com perda do efeito anticontrátil, proliferação das células do músculo liso e inflamação da parede vascular, contributos para a doença vascular, nomeadamente, a coronária. Na porção epicárdica das artérias coronárias, o PVAT relaciona-se com a presença de placas ateroscleróticas (ausente nos segmentos intramiocárdicos) e eventos cardiovasculares³⁶. Os mecanismos subjacentes à disfunção do PVAT ainda não estão esclarecidos, sendo que a maioria das observações são achados em modelos animais.

Um dos mecanismos propostos como ponto de partida para a cascata inflamatória, é o de hipoxia celular. O aumento do TA resulta na diminuição do fluxo sanguíneo à massa adipocitária contribuindo para a hipoxia e necrose celular, sobretudo dos adipócitos hipertrofiados^{37,38}. Neste contexto, é de realçar a importância da MCP-1, sobre-expressa pelo TA na obesidade, e que favorece a migração de monócitos e macrófagos para o tecido adiposo. O recrutamento destas células imunes tem como objetivo a fagocitose dos adipócitos necrosados. Outro mecanismo proposto relaciona-se com o excesso de ácidos gordos armazenados que resulta em anomalias funcionais do retículo endoplasmático e das mitocôndrias, culminando em *stress* oxidativo celular. Estas alterações estão igualmente patentes noutros tecidos tais como o músculo-esquelético e o fígado^{39,40}.

Os macrófagos são células metabolicamente ativas que, dependente do seu fenótipo, têm a capacidade de sintetizar substâncias pró e anti-inflamatórias, representados pelos fenótipos M1 e M2 (Figura 1), respetivamente. Na obesidade predominam os macrófagos tipo- M1 que expressam mediadores pró-inflamatórios como, por exemplo, o TNF- α e a IL-6^{41,42}. Estes macrófagos também contribuem para a resistência à insulina, nomeadamente através dos seus produtos de secreção como o TNF- α e a resistina, e para a acumulação de monócitos na parede arterial; estimulam ainda a secreção de leptina pelos adipócitos através de mecanismos pós-translacionais⁴³. Sustentam e amplificam a cascata inflamatória e, como tal, são centrais no processo fisiopatológico da obesidade. A própria insulino-resistência (IR) está implicada na disfunção endotelial e, previsivelmente, na função vascular. A insulina é uma hormona que, através da ativação da via de sinalização da fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K), promove a expressão do óxido nítrico (NO) endotelial, via estimulação da síntese de óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS). Tem, assim, um efeito vasoprotetor, NO-dependente: induz a vasodilatação, inibe a proliferação e migração de células do músculo liso, atenua a infiltração de células inflamatórias para na parede vascular e inibe a agregação de plaquetas⁴⁴. Esta vasodilatação insulino-mediada aumenta o fluxo sanguíneo (cerca de 40%) para os órgão alvo, potenciada pelo recrutamento de capilares, facilitando a captação e utilização de glicose. Já na IR, a hiperinsulinémia compensatória inibe a via PI3K e ativa uma outra via de sinalização,

a *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), que induz a expressão de endotelina-1 (ET-1), um potente vasoconstritor⁴⁵. A insulina, dependendo da sua concentração e do contexto clínico, tanto pode favorecer a expressão de NO como a de ET-1, com efeitos vasculares antagónicos⁴⁶. A insulina também ativa o sistema nervoso simpático que contribui para a vasoconstrição observada na IR. Estes mecanismos são responsáveis pela macro (hipertensão arterial) e microangiopatia (retinopatia), achados frequentes em doentes com IR. Também através da via MAPK, a expressão de PAI-1, moléculas de adesão das células vasculares (VCAM) e E-selectina está aumentada, contribuindo para o estado pró-inflamatório e pró-aterogénico observado nesta patologia.

A leptina é uma hormona expressa predominantemente, mas não exclusivamente, pelos adipócitos. Os níveis circulantes relacionam-se com a quantidade de massa gorda e o tamanho do adipócito⁴⁷. Transmite ao sistema nervoso central, particularmente ao hipotálamo, informação respeitante ao teor de energia armazenada no tecido adiposo, controlando a ingestão alimentar e implicitamente o balanço energético. Paradoxalmente, na obesidade, o elevado teor de leptina não induz diminuição do apetite, traduzindo um estado de leptino-resistência^{48, 49}. Para além do seu papel na homeostasia energética, a leptina está também implicada na regulação de vários mecanismos fisiológicos, entre eles, a resposta imune⁵⁰. A leptina é considerada uma adipocina com propriedades pró-inflamatórias, estimulando a secreção de outras citocinas, como é o caso da IL-6 e do TNF- α , através da estimulação direta de células imunes como, por exemplo, os macrófagos e as células T pró-inflamatórias. Do ponto de vista clínico, em doentes com doença cardíaca confirmada, níveis elevados de leptina são preditores de futuros eventos cardiovasculares, de forma independente de outros fatores de risco cardiovascular.

A adiponectina é uma proteína maioritariamente produzida pelo adipócito (estudos recentes sugerem que também é sintetizada nos miócitos cardíacos) e é a mais abundante das adipocinas em circulação⁵¹. Atua através de dois recetores, AdipoR1 e AdipoR2, localizados principalmente no músculo-esquelético e fígado, respetivamente. Estes recetores também são patentes no endotélio e miócitos cardíacos, permitindo estabelecer a relação entre a adiponectinémia e as suas ações cardiovasculares⁵². Ao contrário da leptina, os seus níveis estão reduzidos na

obesidade, particularmente na obesidade visceral. A adiponectina atenua a expressão de TNF- α , diminui a quimiotaxia dos macrófagos, favorece a expressão de macrófagos fenotipicamente tipo- M2, aumenta a produção de óxido nítrico, estimula a angiogénese e aumenta a sensibilidade à insulina. Daí ser uma adipocina com propriedades anti-inflamatórias, anti-aterogénicas e anti-diabéticas. A expressão desta hormona é inibida em condições de hipóxia tecidual e *stress* oxidativo, assim como por ação de TNF- α e IL-6, achados frequentes em indivíduos obesos. Como tal, o efeito anti-inflamatório da adiponectina na obesidade é suprimido, nomeadamente em consequência da sobre-expressão daquelas substâncias pró-inflamatórias que inibem a sua síntese⁵³. Para além da sua relação com a obesidade, a hipoadiponectinémia é um achado frequente em indivíduos portadores de hipertensão arterial, dislipidémia e diabetes sendo, por si, considerado um fator independente de risco cardiovascular⁵⁴. A ação cardiovascular protetora da adiponectina advém das suas propriedades anti-aterogénicas e anti-hipertensoras. Inibe, por um lado, a ativação de várias substâncias e processos pró-inflamatórios (moléculas de adesão vascular e intercelular e migração de células imunes para a região sub-endotelial) que favorecem a disfunção do endotélio e, implicitamente, estão na génese da formação, manutenção e rutura da placa aterogénica e, por outro, contribui para a ativação de moléculas anti-inflamatórias⁵⁵⁻⁵⁷. Para além do seu efeito protetor a nível da vasculatura, também limita as remodelações patológicas do miocárdio ventricular, modulando a hipertrofia ventricular e a disfunção diastólica. A relação próxima entre os níveis de adiponectina e o processo aterosclerótico desde a sua fase mais precoce permite, na prática clínica, que esta seja utilizada como um biomarcador da progressão da doença aterosclerótica e da resposta às estratégias terapêuticas instituídas.

Resumindo, na presença de disfunção adipocitária, quer os adipócitos quer os macrófagos do TA expressam substâncias cuja sinalização parácrina potencia localmente a libertação de múltiplos mediadores pró-inflamatórios. Estes, por si, refletem a sua atividade noutros tecidos, estimulando a libertação de outros mediadores inflamatórios, como é o caso da proteína C-reativa (PCR), sintetizada no fígado. A desregulação na produção de citocinas pró-inflamatórias caracteriza, assim, o processo inflamatório crónico de baixa grau observado na obesidade⁵⁸. Mais ainda,

estes mediadores sistêmicos estão implicados nas complicações metabólicas e cardiovasculares da obesidade, incluindo a resistência à insulina, a hipertensão arterial e estados pró-trombóticos, estes dois últimos particularmente associados com o aumento do angiotensinogênio e do PAI-1, respetivamente.

2.2. Disfunção endotelial

O endotélio é uma camada unicelular que regula a homeostase vascular através da expressão de mediadores bioativos⁵⁹. Por vias de sinalização autócrinas, parácrinas ou endócrinas, estes mediadores controlam o tónus vascular (ex. óxido nítrico e endotelina-I), a agregação plaquetária (ex. Factor von Willebrand), a formação de trombos (ex. trombomodulina) e a aderência de leucócitos e facilitam a fibrinólise (ex. ativador do plasminogênio tecidual). Em condições fisiológicas, existe um equilíbrio na produção destas substâncias, estando o endotélio, no seu estado quiescente, tendencialmente vasodilatado e com características anti-aterogénicas^{60, 61}. Central à normal função do endotélio, encontra-se o NO⁶². É catalizado a partir da L-arginina sob a ação da enzima eNOS que, por si, é ativada por forças de cisalhamento (*shear stress*) originadas pelo fluxo sanguíneo. Uma das principais funções do NO é de promover o relaxamento do músculo liso, via ativação da guanilato ciclase solúvel com formação de guanosina monofosfato cíclico, de que resulta vasodilatação e regulação da perfusão tecidual. Também exerce outras funções centrais à homeostase vascular, através da inibição da adesão plaquetária e leucocitária e da proliferação de células do músculo liso vascular. O NO é de tal forma crucial na manutenção da homeostase vascular que a disfunção endotelial define-se em função da biodisponibilidade do NO, diminuída neste contexto, sobrepondo-se à expressão de mediadores vasoconstritores e pró-ateroscleróticos como é o caso da ET-1, um potente vasoconstritor de origem endotelial aumentado na disfunção endotelial.

Considera-se a disfunção endotelial ou ativação endotelial (termo defendido por alguns autores) a lesão mais precoce do processo aterosclerótico que precede qualquer alteração morfológica dos vasos. As alterações subjacentes levam à modificação do fenótipo da parede do vaso culminando na formação da placa aterosclerótica. Representa uma mudança do fenótipo quiescente para um mediado

por citocinas inflamatórias, que contribuem para o início e progressão da doença aterosclerótica.

Vários estudos têm demonstrado que a doença aterosclerótica inicia-se na infância, particularmente em crianças com fatores de risco cardiovascular⁶². Daí que a obesidade infantil seja considerada um importante preditor de morbidade e mortalidade cardiovascular no adulto⁶³.

Na obesidade, a expressão de mediadores inflamatórios pelo tecido adiposo, particularmente a IL-6, resulta na síntese de elevados níveis plasmáticos de PCR pelo fígado, que traduz um processo inflamatório crônico de baixo grau. A PCR é considerada um fator independente de risco cardiovascular pelo seu envolvimento direto na formação da lesão aterosclerótica⁶⁴. A PCR inibe a ação da eNOS diminuindo, conseqüentemente, a biodisponibilidade do NO que tem como conseqüência a vasoconstrição e a aderência leucocitária e plaquetária, fatores relacionados com a disfunção endotelial (Figura 2). À semelhança da PCR, outras substâncias pró-inflamatórias sintetizadas pelo tecido adiposo como a resistina, a leptina, o TNF- α e os ácidos gordos livres, participam na gênese da lesão endotelial, diretamente atuando no endotélio e indiretamente interferindo na produção de outras adipocinas⁶⁵.

Os mediadores referidos contribuem para a lesão endotelial através do aumento da expressão de enzimas oxidativas (ex. NADPH oxidase) formando espécies reativas de oxigênio (ROS) como o anião superóxido e o peróxido de hidrogênio. Em concentrações elevadas, as ROS são tóxicas para o ambiente celular condicionando *stress* oxidativo celular e, conseqüentemente, a desregulação metabólica característica da disfunção endotelial. As ROS têm a capacidade de regular a expressão de vários genes promotores de substâncias ligadas à disfunção do endotélio, como é o caso das moléculas de adesão, citocinas e fatores quimiotáticos⁶⁶. Os próprios mecanismos que contribuem para a eliminação das ROS estão comprometidos, como é o caso das enzimas anti-oxidantes superóxido dismutases, contribuindo para a manutenção da sinalização das reações de redução-oxidação⁶⁷. No endotélio, o *stress* oxidativo culmina na diminuição da biodisponibilidade do NO e, invariavelmente, na redução da capacidade vasodilatadora dependente do endotélio e da atividade anti-aterogénica. A

produção de NO também pode estar comprometida por inibidores endógenos como é caso da enzima dimetilarginina assimétrica (ADMA), um antagonista competitivo da eNOS, que se encontra elevada na presença de concentrações elevadas de TNF- α . Ou seja, a ADMA, na prática clínica, pode ser utilizada como índice indireto da biodisponibilidade do NO visto o doseamento direto deste não ser prático dado a sua curta semi-vida.

O ponto de partida para a aterosclerose inicia-se com o recrutamento de monócitos e células-T para a parede do vaso. A adesão é iniciada com o rolamento dos leucócitos no endotélio, subsequente ligação à superfície endotelial e posterior transmigração destas células inflamatórias para a camada íntima da artéria. Este processo é possível face à presença de moléculas de adesão leucocitárias expressas pelo endotélio^{68,69}. Habitualmente existem em pequenas quantidades, no entanto, na presença de citocinas inflamatórias, a síntese destas substâncias aumenta. As mais importantes são as selectinas P,E e L, de origem plaquetária, leucocitária e endotelial, respetivamente, e as moléculas de adesão intercelular (ICAM) e as VCAM-1⁷⁰. Destas, a E-selectina relaciona-se mais especificamente com o endotélio, sendo particularmente importante no rolamento dos leucócitos. Os níveis aumentados de E-selectina associam-se a fatores de risco cardiovascular sendo um marcador precoce de ativação endotelial⁷¹⁻⁷³.

Na íntima, os linfócitos e macrófagos (originados de monócitos em circulação) perpetuam a resposta inflamatória. Os macrófagos englobam partículas de lipoproteína de baixa densidade oxidadas (LDL-oxidada) formando células espumosas. A LDL-oxidada estimula a produção endotelial de substâncias pró-inflamatórias, incluindo moléculas de adesão leucocitária e o fator estimulador de colónias de macrófagos e inibem a produção de NO. Se o processo inflamatório persistir, o recrutamento de células inflamatórias para a íntima mantem-se, aumentando assim o número de células espumosas e a expressão de citocinas que culminam na formação, manutenção e rutura da placa aterosclerótica.

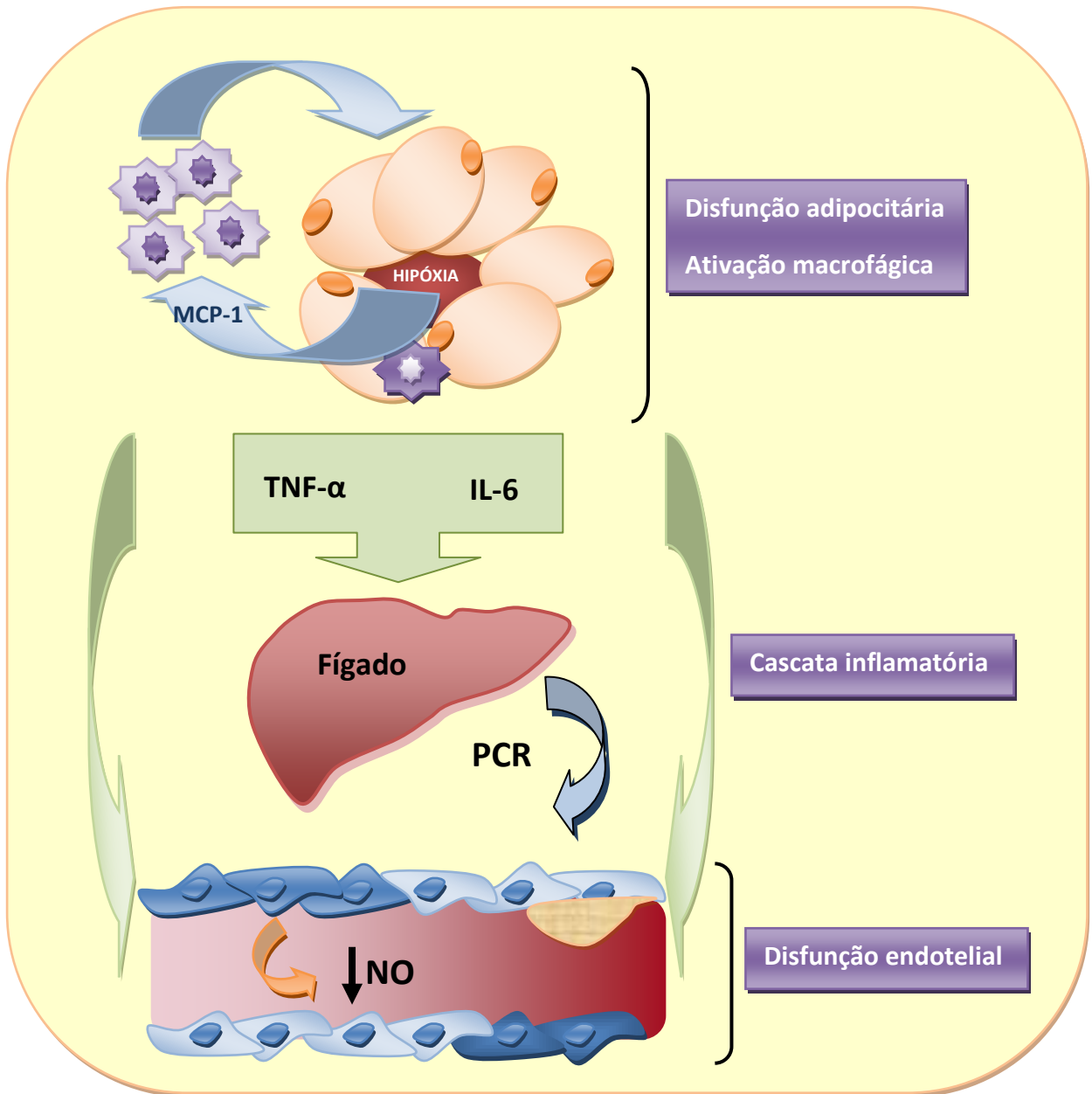


Figura 2- Esquema representativo da relação entre a disfunção adipocitária e endotelial através de um processo inflamatório, tendo como base o recrutamento e ativação de macrófagos e culminando na formação da placa aterogénica.
 MCP-1, proteína quimioatractiva dos monócitos; TNF- α , fator de necrose tumoral- α ; IL-6, interleucina-6; PCR, proteína C-reativa; NO, óxido nítrico.

Se o processo inflamatório se mantiver ativo, o próprio endotélio fica lesado com perda de células endoteliais para a circulação. A regeneração celular ocorre quer por proliferação de células endoteliais adjacentes, cujo potencial regenerativo é limitado, quer por migração para a circulação de células progenitoras com origem na medula óssea, onde representam cerca de 1-5% da população celular, e que têm a capacidade de se diferenciarem em células progenitoras endoteliais (EPCs)⁷⁴. A origem das EPCs não se limita à medula óssea, sendo expressas, também, pelos monócitos/macrófagos e parede vascular. As EPCs têm um papel importante na neovascularização de órgãos isquêmicos e reendotelização de vasos danificados, mantendo a integridade vascular. Em indivíduos saudáveis, o número de EPCs em circulação é negligível (inferior a 0,0001-0,01% das células mononucleares na circulação periférica), visto não haver perdas significativas de células endoteliais. Nos portadores de fatores de RCV apesar da disfunção endotelial implícita, o número e função das EPCs encontra-se reduzido, existindo uma correlação inversa entre o número de fatores de RCV presentes no mesmo indivíduo e o número de EPCs^{75, 76}. Nestes indivíduos, as EPCs também aparentam acarretar valor prognóstico, isto é, quanto menor o número em circulação, maior o risco de eventos cardiovasculares⁷⁷⁻⁷⁹. Desta forma, o número de EPCs pode, potencialmente, ser utilizado como marcador independente de risco cardiovascular⁸⁰. O endotélio expressa fatores de ativação que estimulam o recrutamento de EPCs da medula óssea para a circulação periférica, entre eles o NO, ocorrendo a ligação das EPCs ao endotélio via moléculas de adesão (ex. E-selectina)^{81,82}. Nas circunstâncias em que a biodisponibilidade do NO esteja comprometida, é de esperar um número reduzido de EPCs em circulação assim como da função destes elementos celulares^{83,84}. Estudos mostram que em eventos agudos transitórios (ex. enfarte do miocárdio), o número de EPCs encontra-se elevado. Já em patologias crônicas, os marcadores inflamatórios expressos, tal como a PCR e o TNF- α , inibem a mobilização, diferenciação e função das EPCs^{85,86}.

3. AVALIAÇÃO CLÍNICA DA FUNÇÃO ENDOTELIAL

Os conhecimentos atuais da biologia vascular permitem a sua avaliação, tendo como base marcadores estruturais e funcionais⁸⁷.

3.1. Avaliação morfológica

A avaliação estrutural e funcional do endotélio é possível através da realização da angiografia coronária, sendo este leito arterial um dos mais implicados no processo aterosclerótico. Esta técnica permite a avaliação *in situ* das alterações morfológicas dos vasos em questão e a resposta a fármacos vasoativos (ex. acetilcolina), permitindo aferir a biodisponibilidade do NO. No entanto, apesar de ser o teste *gold standard* na avaliação morfológica da disfunção endotelial do leito coronário, trata-se de um exame de carácter invasivo, dispendioso e associado a vários riscos que só deve ser usado mediante necessidade clínica^{88,89}. Como tal, a sua aplicabilidade como marcador da disfunção endotelial é limitada, particularmente em idades pediátricas.

Outro exame de interesse na prática clínica utilizado para avaliar outras alterações morfológicas associadas à disfunção endotelial, é a espessura da intima-média carotídea (cIMT) avaliada por ultrassonografia^{90, 91}. É um método não-invasivo, seguro e de baixo custo que permite a avaliação do risco cardiovascular, em fases precoces e avançadas da doença aterosclerótica, em grupos considerados de risco^{92, 93}. Apesar de ser uma avaliação periférica é considerada representativa do *status* da circulação coronária. É uma importante ferramenta na avaliação da doença cardiovascular subclínica, possibilitando estratégias de prevenção⁹⁴. Considera-se a existência de placa aterosclerótica quando a cIMT é superior a 1mm ou a 50% da cIMT adjacente. Em idades pediátricas, nos grupos de risco, o aumento da cIMT também se correlaciona com a disfunção endotelial⁹⁵⁻⁹⁸; na população adulta, confere valor preditivo relativamente a futuros eventos cardiovasculares adversos e permite avaliar a evolução da doença e a resposta às terapêuticas instituídas⁹⁹⁻¹⁰². A cIMT apresenta algumas limitações, nomeadamente a ausência de padrões *standard*, e alguns estudos apresentam uma correlação modesta entre a cIMT e a doença coronária¹⁰³.

3.2. Avaliação funcional

O facto de a disfunção endotelial ser resultante de um processo sistémico, possibilita-nos a avaliação não-invasiva da vasorreatividade fluxo-dependente (NO dependente) em artérias mais periféricas, como é o caso da artéria braquial. Neste contexto, utiliza-se a ultrassonografia braquial para avaliar a alteração do diâmetro do vaso, antes e após oclusão do fluxo braquial pela insuflação de uma braçadeira, ou seja, através da hiperémia reativa ou vasodilatação-fluxo-mediada¹⁰⁴. Considera-se uma técnica sensível pois relaciona-se com a função endotelial das coronárias^{105,106}, mas com limitações de ordem técnica e interpretativa, pelo que, segundo alguns autores, não é um método útil para estratificação de risco¹⁰⁷. Nas crianças, a sua utilização é limitada pelo potencial desconforto imposto (insuflação da braçadeira 50mmHg acima da tensão arterial sistólica durante 5 minutos) e necessidade de colaboração¹⁰⁸.

Mais recentemente, tornou-se possível avaliar a hiperémia reativa através da tonometria arterial periférica. Esta técnica avalia de forma não invasiva a função vasodilatadora na microcirculação dos dedos (regista e avalia alterações pulsáteis do volume arterial periférico) antes e após oclusão da artéria braquial, através de um sensor de pletismografia colocado nos dedos. É um teste simples de realizar, reproduzível, operador independente, mas a sua utilização é associada a custos consideráveis. Em crianças tem sido utilizado em grupos de risco como marcador não-invasivo da disfunção endotelial^{109,110}. Alguns estudos em pacientes adultos apontam para uma correlação com a disfunção microvascular coronária e a gravidade da doença coronária^{111,112}.

Outro método não-invasivo de utilidade na prática clínica, principalmente em idades pediátricas, face à sua fácil aplicabilidade, é a avaliação da velocidade da onda de pulso (VOP), que permite a avaliação indireta da rigidez arterial. A VOP quantifica o tempo que a onda de pulso leva a percorrer uma determinada distância no leito arterial. Estudos mostram que existe uma correlação entre a VOP e a presença de disfunção endotelial. Quanto maior a rigidez do vaso, e implicitamente uma menor biodisponibilidade do NO, mais rápida a VOP^{113,114}. Para além de, potencialmente,

identificar doença sub-clínica também tem valor preditivo relativamente a futuros eventos cardiovasculares adversos¹¹⁵.

4. AVALIAÇÃO ANALÍTICA DA DISFUNÇÃO ENDOTELIAL

A quantificação de biomarcadores relacionados com a disfunção endotelial permite avaliar alguns aspetos fundamentais do processo fisiopatológico subjacente, nomeadamente a cascata inflamatória, a ativação do endotélio, a biodisponibilidade do NO e os mecanismos reparadores do endotélio.

4.1. Marcadores inflamatórios

Na obesidade, vários marcadores inflamatórios são expressos, sendo a Proteína C-reativa ultra-sensível (PCRus) a de maior utilidade na rotina clínica. A PCR tem uma semi-vida de cerca 18 horas, não sendo influenciada pela idade, estadio de Tanner ou o ciclo circadiano. É um biomarcador sensível, mas com baixa especificidade para inflamação tecidual. Vários estudos têm demonstrado a sua relação com as doenças cardiovasculares sendo considerado um preditor independente de eventos cardiovasculares^{65,116}. Na prática clínica, o seu interesse prende-se com o facto de se poder atribuir aos seus níveis séricos risco relativo de doença aterosclerótica, mesmo em indivíduos aparentemente saudáveis, nomeadamente baixo (<0.1mg/dl); moderado (0.1-0.3 mg/dl) e elevado (> 0.3mg/dl). Portadores de uma PCRus superior a 0.3mg/dl têm uma probabilidade duas vezes maior de serem portadores de doença aterosclerótica, comparado com indivíduos com baixo risco (Classe de recomendação IIa e nível de evidência B)¹¹⁷. Em crianças obesas, a PCRus não só traduz a presença de um processo inflamatório persistente mas, à semelhança da população adulta, também confere risco cardiovascular^{118,119}. São vários os efeitos pró-aterogénicos da PCR a nível do endotélio: reduz a síntese de eNOS, induz a expressão de agentes inflamatórios (ex. IL-8; MCP-1; PAI-1) e promove a ligação de leucócitos ao endotélio e a transmigração para o espaço sub-endotelial, através da expressão de moléculas de adesão, passos chave na génese da placa aterosclerótica¹²⁰⁻¹²³. As suas ações não se limitam ao endotélio. A PCR também está implicada na proliferação do músculo liso arterial (precursor da capa fibrosa do ateroma), na captação de LDL oxidada pelos

macrófagos (precursores das estrias gordurosas) e na resposta inadequada dos mecanismos reparadores¹²⁴⁻¹²⁶.

A MCP-1 é outro marcador inflamatório expresso pelo endotélio ativado¹²⁷. É uma quimiocina envolvida na cascata inflamatória, principalmente na migração e ativação de leucócitos e monócitos para locais de inflamação¹²⁸, elementos que, por si, irão perpetuar e manter o processo inflamatório, através da secreção de variadas citocinas e quimiocinas, incluindo a MCP-1¹²⁹. Está implicada na progressão da placa aterosclerótica e a sua concentração encontra-se elevada em indivíduos com fatores de risco para doença coronária, incluindo crianças obesas¹³⁰⁻¹³².

4.2. Marcadores da ativação endotelial

As moléculas de adesão celular facilitam a ligação de leucócitos ao endotélio e, posteriormente, a sua transmigração para o espaço sub-endotelial. As mais estudadas são as da família das selectinas e as da superfamília das imunoglobulinas, a VCMA e a ICAM. Conforme referido, a E-selectina tem características singulares visto derivar de células endoteliais, ao contrário das restantes que têm múltiplas fontes. É expressa precocemente em resposta a um estímulo inflamatório e, como tal, é considerada um indicador precoce da ativação endotelial^{133,134}, podendo, potencialmente, aferir RCV. Em quadros inflamatórios mantidos, como é o caso da obesidade, é de esperar a sua sobre expressão¹³⁵. Os valores de referência publicados variam consoante o estudo^{136, 137} mas, durante a infância, os níveis de E-selectina diminuem progressivamente com a idade e são independentes do género^{138,139}.

4.3. Marcadores da biodisponibilidade do óxido nítrico

A avaliação direta do NO plasmático, no contexto da disfunção endotelial, é condicionada por vários fatores: a semi-vida extremamente curta do NO e o facto do NO não ser expresso exclusivamente pelo endotélio^{140,141}. Logo, a necessidade de se recorrer a uma avaliação indireta, pelo doseamento de metabolitos do NO (que pelos mesmos motivos podem não ser representativos do NO endotelial), ou do inibidor endógeno competitivo da eNOS, a ADMA^{142,143}. Os níveis desta enzima, para além de estarem elevados em portadores de doenças com risco cardiovascular¹⁴⁴⁻¹⁴⁶, incluindo

a obesidade¹⁴⁷, são preditivos de eventos cardiovasculares adversos^{148,149}, que se correlacionam com outros marcadores de RCV, como é o caso da cIMT¹⁵⁰ e da PCR¹⁵¹. Estudos mostram que a síntese de NO está comprometida com níveis de ADMA entre 3-15 $\mu\text{mol/l}$ ¹⁵².

4.4. Marcadores dos mecanismos reparadores do endotélio

Em 1997, Asahara e colaboradores descreveram pela primeira vez a presença de células mononucleares, de origem estaminal, CD34 positivas (*Cluster of Differentiation 34*), na circulação periférica com capacidade de neovascularização, às quais atribuíram o nome de células progenitoras endoteliais¹⁵³. Atualmente, sabe-se que as EPCs, de facto, englobam várias populações celulares, sendo as mais importantes, sendo as chamadas verdadeiras EPCs e as células angiogénicas circulantes (CAC)^{154,155}.

As EPCs têm a capacidade de se diferenciar em células endoteliais maduras e têm um importante papel na reparação do endotélio lesado. A libertação destas células da medula óssea para a circulação periférica ainda não é completamente conhecida, propondo-se, entre outros mecanismos, a ativação da metaloproteinase da matriz -9, um processo NO dependente. As EPCs expressam alguns recetores comuns à célula endotelial, nomeadamente o CD34 e o *Vascular Endothelium Growth Factor Receptor-2*, que permitem a sua ligação ao endotélio danificado e a sua quantificação por citometria de fluxo¹⁵⁶. Estes marcadores não são exclusivos da célula endotelial, podendo condicionar potenciais erros na sua leitura. No entanto, apesar de não existir um marcador específico, a associação de CD34-CD33-VEGFR2 na mesma linha celular aparenta caracterizar as EPCs. Em crianças obesas, são raros os estudos que quantificam as EPCs e, face às diferentes metodologias usadas, os resultados são conflituosos^{157,158}.

As CAC têm uma baixa capacidade proliferativa e não são portadoras do fenótipo da célula endotelial, sendo a sua quantificação por cultura celular. Não são incorporadas no endotélio e participam no processo restaurador do endotélio lesado, por via parácrina. A sua capacidade migratória é NO-dependente estando também comprometida na disfunção endotelial^{159,160}.

5. OBJETIVOS

Na população pediátrica portuguesa não existem estudos que correlacionem a adiposidade com a disfunção do endotélio, assim como, a inter-relação destes com as comorbilidades que se associam à obesidade tão pertinentes na vida adulta. Face a esta lacuna definimos como objetivos os seguintes:

Objetivo principal

O nosso objetivo principal consistiu em determinar os marcadores precoces da disfunção do adipócito e do endotélio e a sua inter-relação através de uma análise comparativa, em função do género e da idade puberal, entre uma população pediátrica obesa e uma população pediátrica não-obesa.

Objetivos secundários

Pretendemos ainda determinar nas populações em estudo:

- a relação entre a adiposidade, o processo inflamatório e a disfunção do endotélio.
- a relação da adiposidade, o processo inflamatório e a disfunção do endotélio com a hipertensão arterial, a insulino-resistência, a dislipidémia e as alterações cardio-vasculares.
- a influência do género, no contexto da obesidade, com a hipertensão arterial, a insulino-resistência, a dislipidémia e as alterações cardio-vasculares.
- a presença de mecanismos reparadores do endotélio no contexto da disfunção endotelial, através da quantificação de células progenitoras endoteliais circulantes.
- valores preditivos entre os marcadores de adiposidade e a hipertensão arterial, a insulino-resistência e a dislipidémia.

CAPÍTULO 2

METODOLOGIA

1. DESENHO DO ESTUDO E SEU ENQUADRAMENTO

Este é um estudo observacional analítico, transversal, com metodologia de caso controlo, que decorreu entre 2009 e 2012. A aquisição das amostras, quer do grupo alvo quer do grupo controlo, foi baseada numa seleção aleatória simples.

A Consulta de Risco Cardiovascular do Serviço de Cardiologia Pediátrica do Hospital Pediátrico- Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE (HP-CHUC,EPE), é uma consulta de referência da região Centro do país onde são observadas crianças e adolescentes até aos 18 anos de idade com patologias associadas a aumento de risco cardiovascular. Neste contexto predominam as crianças com obesidade.

A avaliação clínica e laboratorial dos casos selecionados decorreu durante um período único de consulta. O motivo pelo qual esta avaliação foi realizada num período único de consulta, e não de forma seriada, prende-se com o facto de após uma primeira consulta são instituídas medidas terapêuticas que numa futura avaliação poderão alterar as medições/avaliações previamente detetadas, potencialmente introduzindo novos fatores interferentes.

2. POPULAÇÃO DO ESTUDO E CÁLCULO DA DIMENSÃO DA AMOSTRA

Foram incluídas no estudo crianças entre os 6 e 17 anos, de ambos os sexos, seguidas por obesidade primária.

O grupo controlo é composto por crianças com IMC considerado normal para a idade e sexo (IMC entre P5 e P85) referenciadas por suspeita de doença cardíaca, não confirmada, e sem outras patologias associadas.

Durante o período do estudo, foram selecionadas 120 crianças obesas. O grupo controlo foi constituído por 41 crianças. Ambos os grupos foram sujeitos aos critérios de inclusão e exclusão.

Usando o programa G*Power 3.1.5 para um nível de significância 0.05, uma potência de 0.80, um *effect size* de 0.52 e um *rácio* N1/N2 de 3, obtivemos o tamanho da amostra para o grupo controlo de 40 e para o grupo obeso de 118.

3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Como critérios de inclusão considerámos crianças entre os 6 e 17 anos e 364 dias, com IMC superior ao percentil (P) 95 e com o diagnóstico *de novo* de obesidade primária. Para definir o IMC utilizámos as tabelas de percentis propostas pela Organização Mundial de Saúde¹⁶¹.

Foram critérios de exclusão: causas de obesidade secundária; presença de doenças inflamatórias agudas ou crónicas; patologia infecciosa crónica ou com menos de 3 semanas de evolução; utilização crónica de fármacos ou prescritos nos últimos 30 dias antes da avaliação; crianças com diabetes *mellitus* tipos 1 ou 2; crianças com cardiopatia estrutural ou funcional; e crianças portadoras de doenças do foro neurológico, renal, digestivo ou hepático.

4. PROTOCOLO DO ESTUDO

Todos os participantes do estudo foram submetidos, após um período de jejum de 12 horas, a uma avaliação clínica, imagiológica e analítica. As raparigas adolescentes incluídas no estudo encontravam-se fora do seu período menstrual.

5. AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação clínica incidiu sobre a anamnese e o exame objetivo.

5.1. Anamnese

Relativamente à anamnese os seguintes dados foram colhidos:

- data de nascimento, sexo, idade, escolaridade;
- antecedentes familiares, incluindo, história familiar de obesidade, dislipidémia, hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, enfarte do miocárdio, acidente vascular cerebral precoce, morte súbita, tabagismo e outras doenças;
- antecedentes pessoais, incluindo, gesta, gravidez e riscos associados (dislipidémia, diabetes *mellitus*), tempo de gestação, tipo de parto, peso e estatura à nascença, índice de Apgar, curvas dos percentis de crescimento (peso e estatura) recolhidos do

Boletim de Saúde Infantil, ressalto adipocitário, antecedentes patológicos e medicação;

- estilos de vida, particularmente hábitos alimentares, atividade física (extra-curricular) e tempo de ecrã (número de horas por dia passadas em frente do computador e/ou televisão em atividades lúdicas).

5.2. Exame objetivo

O exame objetivo incluiu: peso (Kg); estatura (cm); IMC (Kg/m²); pressão arterial (mmHg) sistólica e diastólica, em todos os membros; frequência cardíaca (batimentos por minuto); percentagem de massa gorda (%MG), circunferência abdominal (CAbd;cm); avaliação do estado geral; presença de acantose nigricans; presença de estrias abdominais; exame neurológico sumário; avaliação dos sistemas cardiovascular, respiratório e gástrico.

O cálculo do IMC foi baseado no peso e estatura segundo a fórmula: $IMC = \frac{\text{peso}}{\text{estatura}^2}$ ¹⁶². O peso foi avaliado numa balança digital SECA 220 (Medical Scales and Measuring Systems, Germany) com peso máximo de 200 quilogramas (Kg) e mínimo de 100 gramas, e a estatura usando uma craveira, incorporada no mesmo equipamento, com extensão de 2 metros (m) e dividida em centímetros (cm) e subdividida em milímetros (mm). O peso e a estatura foram aferidos conforme as recomendações de Cameron e colaboradores¹⁶³. Os pontos de corte do IMC foram baseados nas tabelas de percentis propostas pela OMS¹⁶¹, nomeadamente, obesidade se o percentil fosse superior a 95 e, normal, se entre 50 e 85.

A pressão arterial (sistólica, diastólica e média) foi determinada por método automático oscilométrico usando o aparelho IntelliVue MP5 (Philips), com braçadeiras Easy Care (Philips) adequadas ao comprimento e diâmetro do antebraço da criança (braçadeiras 20,5x28,5mm e 27,5x36,5mm). A interpretação da pressão arterial diastólica e sistólica, foi baseada em valores publicados em tabelas de percentis adequadas à idade, género e estatura propostas por *“The Fourth Report on the diagnosis, evaluation, and treatment of High Blood Pressure in children and Adolescents”*; foi considerada hipertensão arterial sistólica ou diastólica se valores iguais ou superiores ao P95, pré-hipertensão se entre P90 e P95 e normal se inferior a

P90, em pelo menos três estimativas. Todos os casos com suspeita de hipertensão arterial foram submetidos a um MAPA (Monitorização Ambulatória da Pressão Arterial).

Para determinação da CABd utilizou-se uma fita métrica flexível e inelástica colocada a meia distância entre o bordo da última costela e a crista ilíaca com o indivíduo em pé e relaxado. A %MG foi determinada por bioimpedância elétrica usando o aparelho BIA 101 ANNIVERSARY (AKERN SRL, Italy), com o participante em jejum, deitado sobre uma superfície não condutora. Após limpeza das áreas de colocação dos elétrodos, com álcool, estes foram posicionados segundo recomendações do fabricante: um elétrodo emissor foi colocado próximo da articulação metacarpo-falângea da superfície dorsal da mão direita e outro distal ao arco transversal da superfície superior do pé direito. Um elétrodo detector foi colocado entre as proeminências distais do rádio e da ulna do punho direito e, o outro, entre os maléolos medial e lateral do tornozelo direito.

6. AVALIAÇÃO IMAGIOLÓGICA

6.1. Ecocardiografia

A ecocardiografia (eco) permite, em tempo real, de forma não-invasiva e sem riscos para o doente, avaliar aspetos estruturais e funcionais do coração através da eco bidimensional (2D), eco Doppler pulsado (PW), eco Doppler contínuo (CW), modo M e eco Doppler codificado a cores. As incidências usadas são: quatro câmaras, cinco câmaras, paraesternal eixo longo, paraesternal eixo curto, subcostal e supraesternal. O exame foi realizado numa sala climatizada própria para esse efeito com o participante em decúbito dorsal e, quando necessário, em decúbito lateral. Foi usado um ecógrafo General Electrics (GE, United States) Vivid 7 e uma sonda de 5MHz. Todos os exames foram validados por um segundo operador.

No contexto do presente estudo, a avaliação estrutural pretendeu avaliar os seguintes parâmetros: situs; concordância aurículo-ventricular e arterio-ventricular; proporcionalidade das cavidades e vasos cardíacos; dimensão das cavidades cardíacas; morfologia valvular e presença de defeitos congénitos. Relativamente ao ventrículo

esquerdo (VE) foram avaliados os seguintes parâmetros: diâmetro diastólico do VE (DDVE); diâmetro sistólico do VE (DSVE); diâmetro do septo interventricular (SIV), diâmetro da parede livre do VE (PPVE), massa ventricular esquerda (MVE), espessura relativa da parede (ERP) e índice da massa ventricular esquerda (IMVE).

Já a avaliação funcional focou os seguintes aspetos: função sistólica do VE, incluindo a fração de encurtamento do VE (%FE) e a fração de ejeção do VE (%Fej); função diastólica do VE, incluindo o fluxo transvalvular mitral, a relação da onda A e E e a integral velocidade-tempo (TVI); pressão sistólica da artéria pulmonar (PSAP); integridade valvular (lesões regurgitantes/estenóticas) e quantificação de fluxos valvulares.

6.2. Espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum

A espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum é uma avaliação ecográfica da espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum.

Esta avaliação foi realizada segundo o consenso de Mannheim com o participante em decúbito dorsal, com extensão e lateralização da cabeça para a esquerda, visto ter sido a artéria carótida comum direita o vaso analisado. O ecógrafo usado foi o GE Vivid 7 com uma sonda linear de 15 MHz. Analisou-se no mínimo 10mm da região posterior da artéria carótida comum, justa bifurcação da artéria carotídea (Figura 3). Foram realizadas duas medidas em cada participante, obtendo-se a média destas medidas para efeitos estatísticos. Todas as medidas foram confirmadas por um segundo operador.

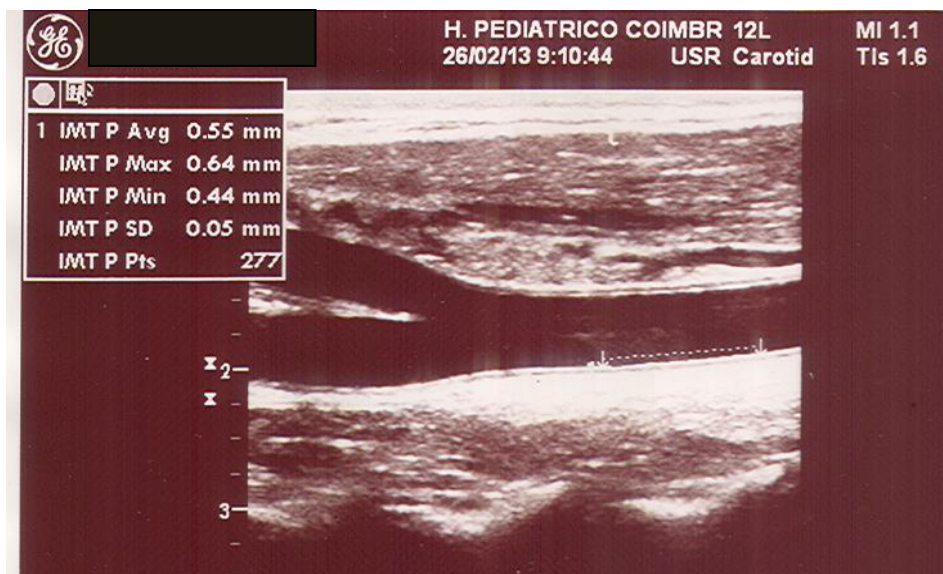


Figura 3- Imagem ecográfica da artéria carótida comum ilustrando a avaliação da espessura da camada intima-média.

7. AVALIAÇÃO LABORATORIAL

De cada participante foram colhidos 10 mililitros (ml) de sangue periférico. A avaliação laboratorial repartiu-se entre duas Instituições: HPC-CHUC,EPE e o Laboratório de Fisiologia e Instituto de Imagem Biomédica e Ciências da Vida (IBILI) da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Os valores de referência representados são aqueles que vigoram nos respetivos laboratórios.

Nos laboratórios de Bioquímica, Hematologia e Imunologia do CHUC- HPC,EPE foram analisados os seguintes parâmetros: hemoglobina, fórmula leucocitária e plaquetas; sódio, potássio, ureia, creatinina, cálcio, magnésio, fósforo, transaminase glutâmico oxalacética (TGO), transaminase glutâmico pirúvica (TGP), colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL-C), lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), triglicéridos (TG), glicose; apolipoproteína A-I (apoA-I), apolipoproteína B (apoB) e lipoproteína a [Lp(a)]; PCRus; leptina; insulina; tiroxina livre (T4) e hormona estimulante da tiroide (TSH).

No Laboratório de Fisiologia do IBILI foram analisados os seguintes parâmetros: adiponectina; E-selectina; ADMA e MCP-1.

No Laboratório do Instituto Português do Sangue e Transplantação de Coimbra foram processadas as análises para contagem das EPCs.

Os parâmetros analíticos contemplados no estudo realizaram-se recorrendo às seguintes técnicas laboratoriais:

- para a determinação do hemograma foram colhidas amostras de sangue total em tubos com ácido etilendiamino *tetra-acético* (EDTA), posteriormente processadas no analisador hematológico Cell-Dyn Sapphire (Abbott Diagnostics), recorrendo às metodologias de espectrofotometria e citometria de fluxo.

- para a determinação de sódio, potássio, ureia, creatinina, magnésio, fósforo, cálcio, TGO, TGP, CT, HDL-C, LDL-C, TG e glicose, foi utilizado plasma obtido da centrifugação de amostras de sangue periférico colhidas em tubos com lítio-heparina, e processadas no analisador VITROS 5.1 FS (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson), que utiliza a tecnologia de *microslide* associada a potenciometria, colorimetria e enzimática cinética.

- na determinação de PCRus, ApoA-I, Apo B e Lp(a), foi utilizado soro obtido após centrifugação de amostras de sangue periférico colhidas em tubos sem preparação, e processadas no analisador BN ProSpec® System (Siemens Healthcare Diagnostics Inc.) utilizando a metodologia de imunonefelometria.

- os níveis de T4 e TSH, determinados em amostras de soro, foram processadas no analisador ADVIA Centaur XP (Siemens Medical Care Diagnostics). A metodologia usada para quantificação destes parâmetros foi a quimioluminometria direta.

- na avaliação das concentrações de leptina, foi utilizado soro obtido após centrifugação de amostras de sangue periférico colhidas em tubos sem preparação, recorrendo à metodologia de radio- imunoensaio.

- a insulina, determinada no soro, foi processada no analisador dos sistemas IMMULITE 2000 (Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd) pela técnica de quimioluminescência.

- para as determinações da MCP-1, da ADMA, e da E-selectina, amostras de soro de sangue periférico colhido em tubos sem preparação foram processadas, usando os *kits* do sistema OptEIA™ (BD Biosciences Pharmingen), pela técnica de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

- para determinação das EPC, amostras de soro de sangue periférico colhido em tubos sem preparação foram processadas no analisador Infinicyt™ software, V.1.5 (Cytognos SL, Salamanca, Spain) usando a técnica de citometria de fluxo .

Para a identificação e caracterização das EPCs recorreu-se à utilização dos seguintes anticorpos: anti-CD146 (clone: P1H12, Becton Dickinson Pharmingen, San Diego, CA, USA), anti-KDR (clone: 89106, R&D System, Headquarters, Minneapolis, USA), anti-CD34 (clone: 8G12, BD Bioscience, San Jose, CA, USA), anti-CD133 (clone: 293C3, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) and CD45 (clone: J.33, Immunotech – Beckman Coulter, Marseille, France).

Foram identificadas como EPCs as células que tinham pelos menos um marcador de origem estaminal (CD34 e CD133) e pelo menos um marcador com diferenciação endotelial (KDR e CD146). O anticorpo CD45 foi usado para excluir os leucócitos da contagem, potencial fonte de falsos positivos.

8. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

O programa de banco de dados *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 20 foi usado para análise de dados, recorrendo aos seguintes testes estatísticos:

- os dados quantitativos são apresentados como média±EPM (*erro padrão da média*) e os dados qualitativos como N/%.
- A normalidade das variáveis foi verificada recorrendo aos testes de *Kolmogorov-Smirnov* e de *Shapiro-Wilk*.
- para comparar variáveis quantitativas nos grupos obeso e controlo foi usado o teste t de *Student*, se a distribuição foi normal, ou caso contrário, o teste U de *Mann-Whitney*.
- para comparar variáveis qualitativas nos grupos obeso e controlo foi usado o teste qui-quadrado.
- para fazer comparações nos dois grupos ajustando à idade e género foi usada a regressão linear múltipla.
- para verificar a associação entre parâmetros recorreu-se à correlação de *Pearson* ou *Spearman*, consoante o comportamento (normal ou não) das variáveis.
- para verificar a associação entre parâmetros (quantitativos/qualitativos), ajustando a outros parâmetros, recorreu-se ao teste t de *Student*, ao Chi-quadrado, a regressão logística binária, regressão linear e correlações parciais.
- para estimar a capacidade preditiva de determinados parâmetros foram calculadas as áreas sob as curvas de ROC e foram estabelecidos pontos de corte usando a fórmula de *Youden*.
- foram feitas sub-análises por grupos de idade puberal e género usando a metodologia previamente descrita.

9. ASPETOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, EPE. Todos os dados relativos ao projeto, incluindo a vertente investigacional foram fornecidos aos pais, que assinaram e dataram presencialmente o respetivo consentimento informado.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS GRUPOS EM ESTUDO

1. POPULAÇÕES

Integraram o estudo 120 crianças obesas com idades compreendidas entre os 6 e os 17 anos de idade (11.65 ± 0.27 anos), sendo 61 do sexo masculino e 59 do sexo feminino. Do total, 54 eram pré-adolescentes e 66 adolescentes.

O grupo controlo incluiu 41 crianças com índice de massa corporal normal, dentro da mesma faixa etária (12.73 ± 0.43 anos), 29 do sexo masculino e 12 do sexo feminino. Do total, 13 eram pré-adolescentes e 28 adolescentes.

A idade média apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos ($p=0.038$), superior no grupo controlo. Na Tabela 1 encontram-se representadas as diferenças entre os dois grupos relativamente ao género e idade puberal.

Tabela 1- Diferenças no género e idade puberal entre o grupo de crianças obesas e não-obesas

		Grupo obeso		Grupo controlo		valor-p*
		N	%	N	%	
Género	Rapazes	61	50.8	29	70.7	0.027
	Raparigas	59	49.2	12	29.3	
Faixa etária	Pré-adolescentes	54	45.0	13	31.7	0.136
	Adolescentes	66	55.0	28	68.3	

N, número de casos; % , percentagem; valor-p, nível de significância

*teste qui-quadrado de Pearson

2. ANTECEDENTES FAMILIARES: OBESIDADE, DIABETES MELLITUS TIPO 2, DISLIPIDÉMIA E HIPERTENSÃO ARTERIAL

No grupo obeso, a prevalência de obesidade em familiares diretos (pais) foi de 45.8% (58% pai; 42% mãe) vs 12.2% no grupo controlo ($p < 0.001$), de diabetes *mellitus* tipo 2 foi de 12.5% vs 4.9% no grupo controlo ($p = 0.170$), de dislipidémia (hipercolesterolemia) foi de 35% vs 31.7% no grupo controlo ($p = 0.701$) e de hipertensão arterial foi de 21.7% vs 14.6% no grupo controlo ($p = 0.330$).

3. ANTECEDENTES PRÉ-NATAIS, PERINATAIS E NEONATAIS

Em ambos os grupos, não se verificaram antecedentes pré- ou peri-natais de relevo. O índice de Apgar foi de 9 ao primeiro minuto e dez ao quinto minuto, em todos os casos. Também o período neonatal decorreu sem incidentes em todos os casos.

4. PESO DE NASCENÇA E RESSALTO ADIPOCITÁRIO

O peso à nascença do grupo obeso (3.36 ± 0.577 Kg) e do grupo controlo (3.21 ± 0.517 Kg) não apresentou diferenças estatisticamente significativas ($p = 0.175$). O peso de nascença foi superior a 4kg em 10.2% e 7.7% e, inferior a 2.5kg em 6.5% e 2.6% nos grupos obeso e controlo, respetivamente. Verificámos também que, na nossa população, um peso superior a 4Kg não se relacionou significativamente com os índices de adiposidade (IMC, $p = 0.251$; %MG, $p = 0.918$; CA_{Abd}, $p = 0.476$) e, implicitamente, com uma maior probabilidade de se ser obeso durante a infância ($p = 0.761$). Também não encontramos uma relação significativa entre este peso de nascença e a pressão arterial sistólica ($p = 0.625$) e diastólica ($p = 0.294$), o índice de insulino-resistência ($p = 0.218$), e o perfil lipídico ($p > 0.05$). Baseado nesta tendência e, como seria de esperar, um PN > 4Kg, não se relacionou com as comorbilidades relacionadas com a obesidade (HTA, $p = 1.0$; IR, $p = 0.751$; dislipidémia, $p = 0.257$).

Pela sua associação a um maior risco cardiovascular, relacionámos um peso inferior a 2.5Kg com os marcadores de ativação endotelial e mecanismos reparadores e, não verificámos qualquer relação com estes (E-selectina, $p = 0.275$; ADMA, $p = 0.809$; EPCs; $p = 0.138$), assim como a HTA ($p = 0.711$), a IR ($p = 0.840$) e a dislipidémia ($p = 0.556$).

Como se pode observar na Figura 4, o ressalto adipocitário ocorreu mais precocemente no grupo de crianças obesas (3.55 ± 0.26 vs 6.06 ± 0.06 anos), observando-se diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. No entanto, não observámos qualquer correlação entre o ressalto adipocitário e a insulino-resistência, pressão arterial sistólica e dislipidémia ($p > 0.05$). Um ressalto adipocitário mais precoce associa-se a uma maior probabilidade de obesidade na vida adulta.

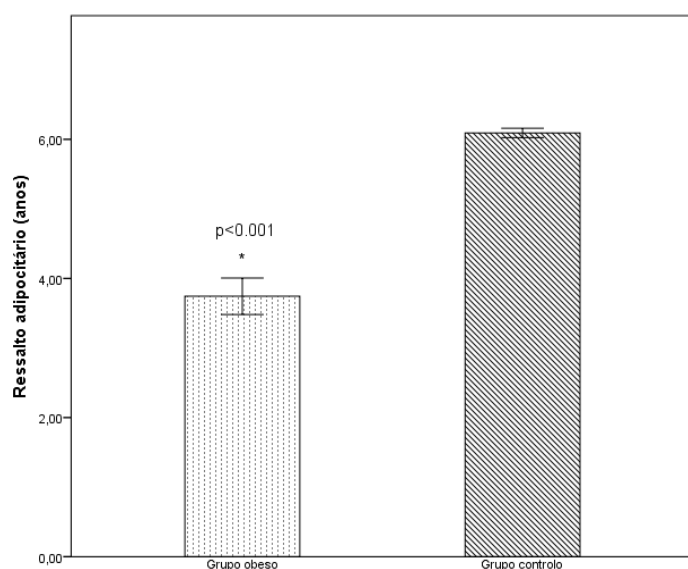


Figura 4- Ressalto adipocitário nos grupos obeso e controlo, sendo evidente um início mais precoce em crianças obesas, o que aumenta o risco de obesidade na vida adulta. Dados expressos como média \pm erro padrão da média; *teste U de Mann-Whitney; p, nível de significância Grupo obeso, (N=95); grupo controlo, (N=41).

5. ESTILOS DE VIDA

A nossa avaliação incidiu sobre dois aspetos relacionados com estilos de vida: o tempo de ecrã e o exercício físico. Constatámos que cerca de dois terços das crianças obesas despendiam mais que 2 horas diariamente a ver televisão (7% passavam mais que 4 horas/dia), cerca de 2.5 vezes mais em relação às crianças não-obesas ($p < 0.001$).

Previsivelmente, as crianças obesas também se encontravam menos envolvidas em atividades desportivas do que as crianças não-obesas ($p < 0.001$).

6. ÍNDICE DE MASSA CORPORAL, PERCENTAGEM DE MASSA GORDA E CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL

Os índices utilizados neste estudo para definição da obesidade e obesidade central (Figura 5), apresentaram, como previsto, diferenças estatisticamente significativas, superiores no grupo obeso ($p < 0.001$).

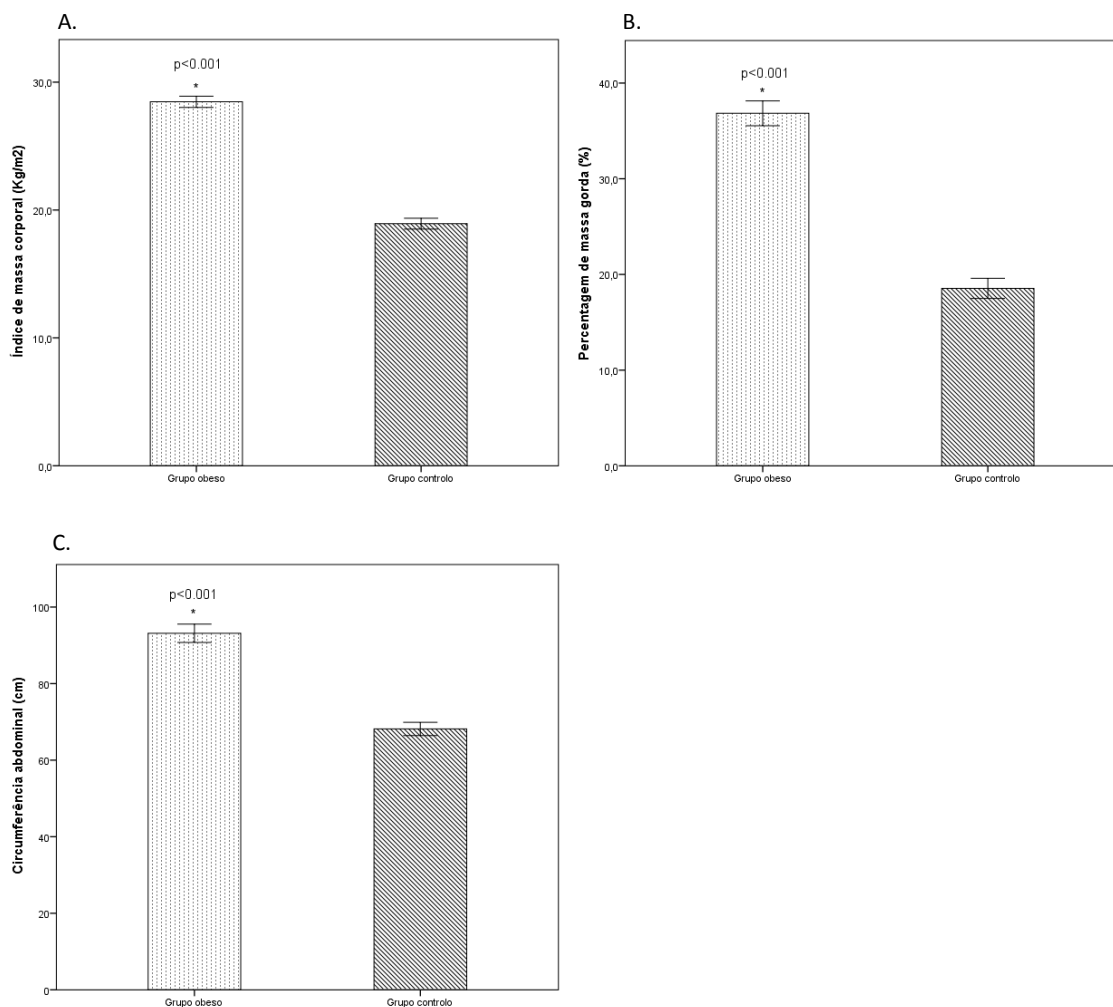


Figura 5- Índice de massa corporal (A), percentagem de massa gorda (B) e circunferência abdominal (C), nos grupos obeso e controle.

Dados expressos como média \pm erro padrão da média; * teste t de Student; p, nível de significância. Grupo obeso, (N=120); grupo controle, (N=41).

Estas diferenças mantiveram-se considerando o género (Figura 6) e faixa etária (Figura 7), sempre superior no grupo obeso. Como já referido no texto, a distribuição regional da gordura é importante no contexto do risco cardiovascular, em particular, o tecido adiposo visceral. Entre géneros, constatámos, no grupo de rapazes obesos, que a circunferência abdominal foi superior, apesar desta diferença não ser estatisticamente significativa (93.9cm vs 92.4cm; $p=0.534$).

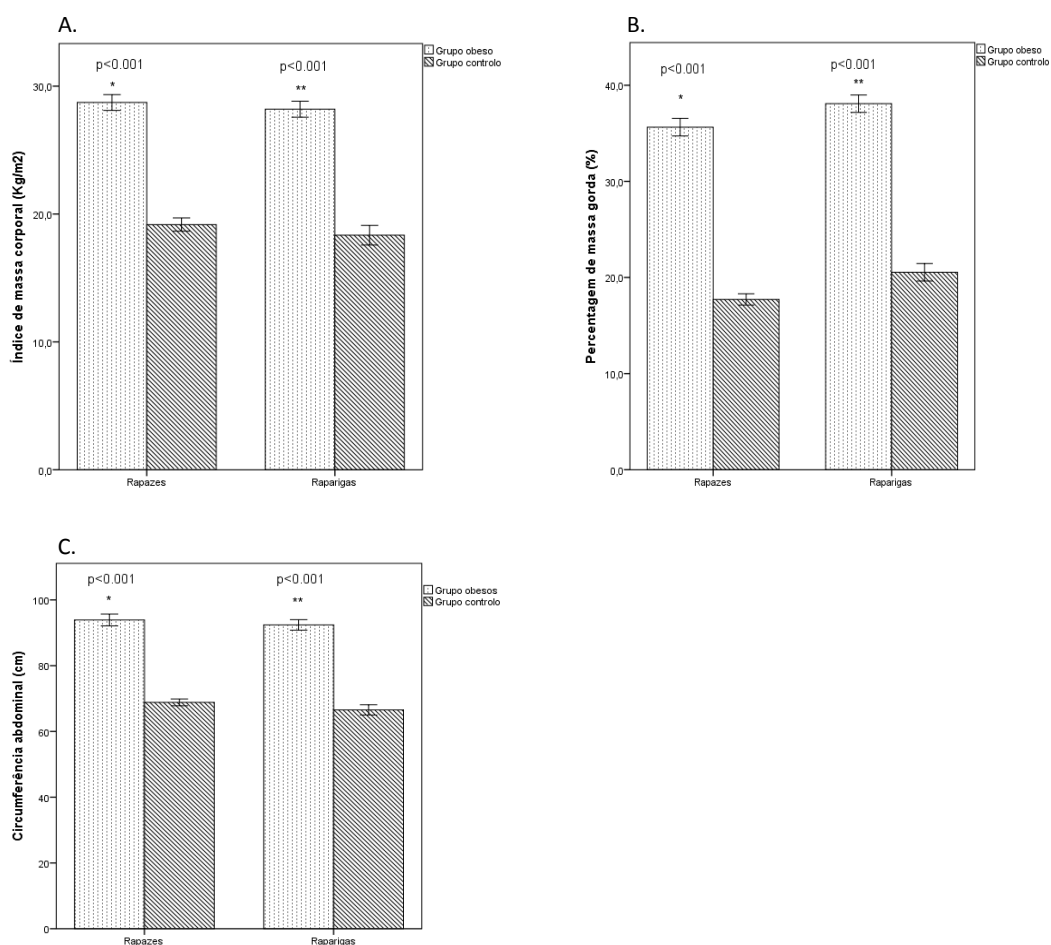


Figura 6- Índice de massa corporal (IMC;A), percentagem de massa gorda (MG%;B) e circunferência abdominal (CAbd;C), em função do género. Quer os rapazes quer as raparigas apresentaram valores superiores no grupo obeso.

Dados expressos como média±erro padrão da média; * teste t de Student; **teste U de Mann-Whitney; p, nível de significância.

Grupo obeso- rapazes: IMC, (N=61); %MG,(N=61); CAbd, (N=61); grupo controlo- rapazes: IMC, (N=29); %MG,(N=29); CAbd, (N=29).

Grupo obeso- raparigas: IMC, (N=59); %MG, (N=59); CAbd, (N=59); grupo controlo- raparigas: IMC, (N=12); %MG, (N=12); CAbd, (N=12).

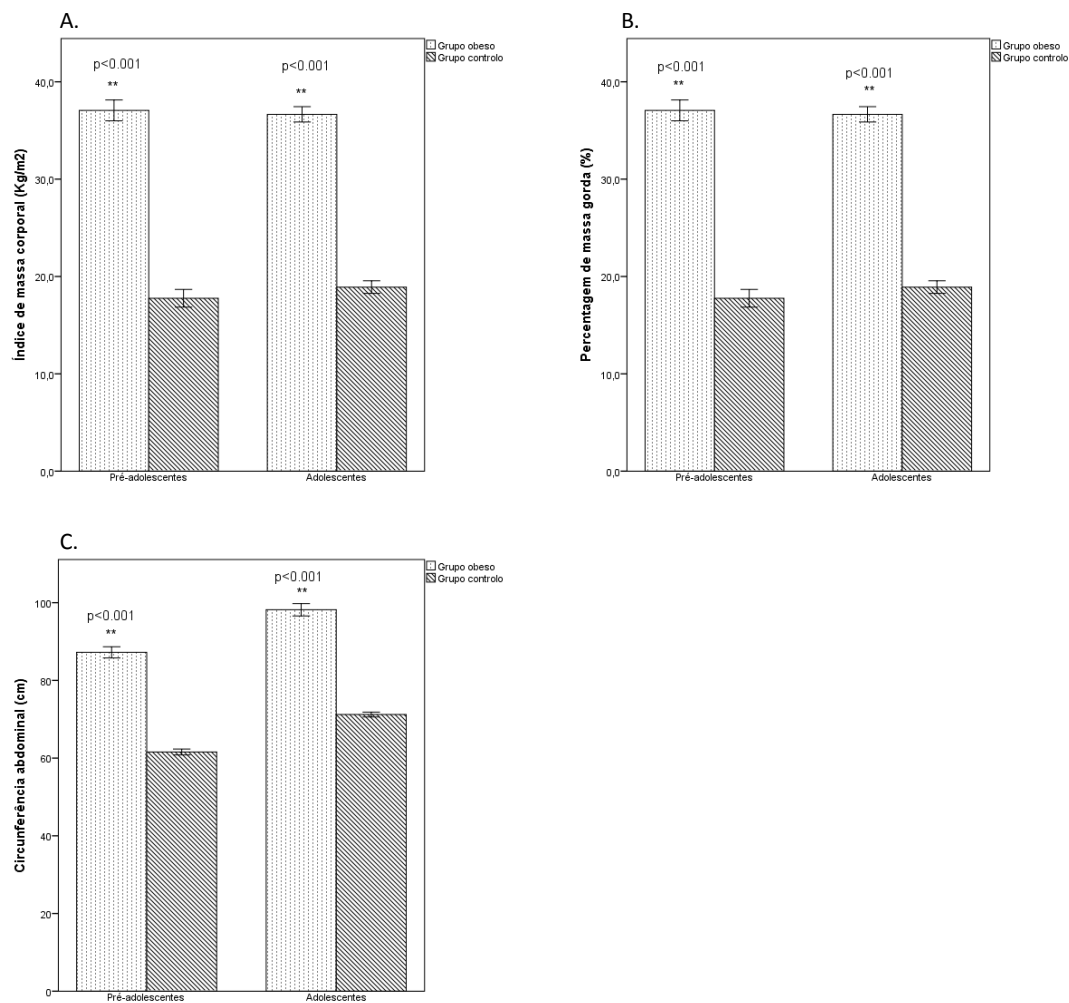


Figura 7- Índice de massa corporal (IMC;A), percentagem de massa gorda (%MG;B) e circunferência abdominal (CAbd;C), em função da faixa etária, sendo evidente, quer na pré-adolescência quer na adolescência, diferenças estatisticamente significativas, superiores no grupo obeso.

Dados expressos como média±erro padrão da média; ** teste U de Mann-Whitney; p, nível de significância.

Grupo obeso- pré-adolescentes: IMC, (N=54); %MG, (N=54); CAbd, (N=54); grupo controle- pré-adolescentes: IMC, (N=13); %MG,(N=13); CAbd (N=13).

Grupo obeso- adolescentes: IMC,(N=66); %MG, (N=59); CAbd, (N=66); grupo controle- adolescentes: IMC,(N=28); %MG,(N=12); CAbd, (N=28).

7. ACANTOSE NIGRICANS

No grupo obeso, a prevalência de acantose nigricans foi de 65% (70.5% dos rapazes) e mais prevalente nos adolescentes (57.7%), achado não constatado no grupo controle.

Não se observou uma relação entre a insulino-resistência (HOMA-IR>3) e a presença de acantose nigricans no grupo de crianças obesas (p=0.515), mesmo

ajustando ao gênero. No entanto, cerca de dois terços das crianças com IR (68.9%) tinham acantose nigricans.

8. PRESSÃO ARTERIAL SISTÓLICA E DIASTÓLICA

A hipertensão arterial sistólica confirmou-se em 9.2% da população obesa. A pré-hipertensão arterial sistólica foi identificada em 33.3% da população obesa e 14.6% do grupo controle. Em ambos os grupos, não se observaram casos de hipertensão arterial diastólica.

Os valores da pressão arterial sistólica foram superiores no grupo obeso (Figura 8), tendência que se manteve após ajuste à idade (PAs: $p < 0.001$, OR=1.12), tal como a pressão arterial diastólica, mesmo depois de ajustada ao gênero (PAD: $r = 0.306$, $p < 0.001$) e à idade ($p < 0.001$, OR=1.13).

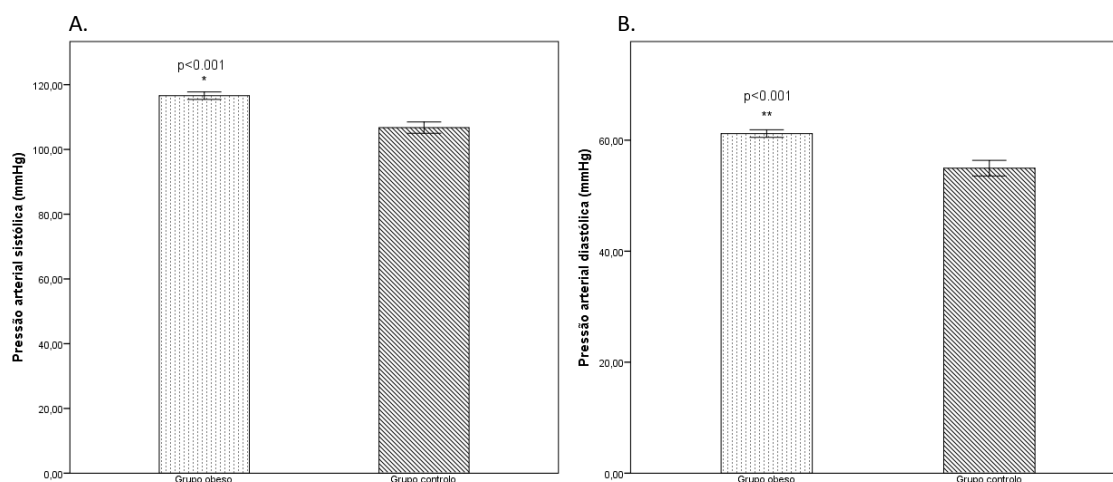


Figura 8- Pressão arterial sistólica (A) e diastólica (B) dos grupos obeso e controle. Ambos os componentes da pressão arterial foram significativamente mais elevados no grupo de crianças obesas. No nosso estudo, a prevalência de hipertensão arterial no grupo obeso foi de 9,2%.

Dados expressos como média±erro padrão da média; *teste t de Student; **teste U de Mann-Whitney; p,nível de significância.

Grupo obeso, (N= 120); grupo controle, (N=41).

A influência do género e da idade puberal em ambos os componentes da pressão arterial encontra-se expressa nas Figuras 9 e 10, respetivamente.

Relativamente ao género, mantiveram-se as diferenças significativas, mas não se observaram diferenças da pressão arterial diastólica no grupo das raparigas ($p=0.293$).

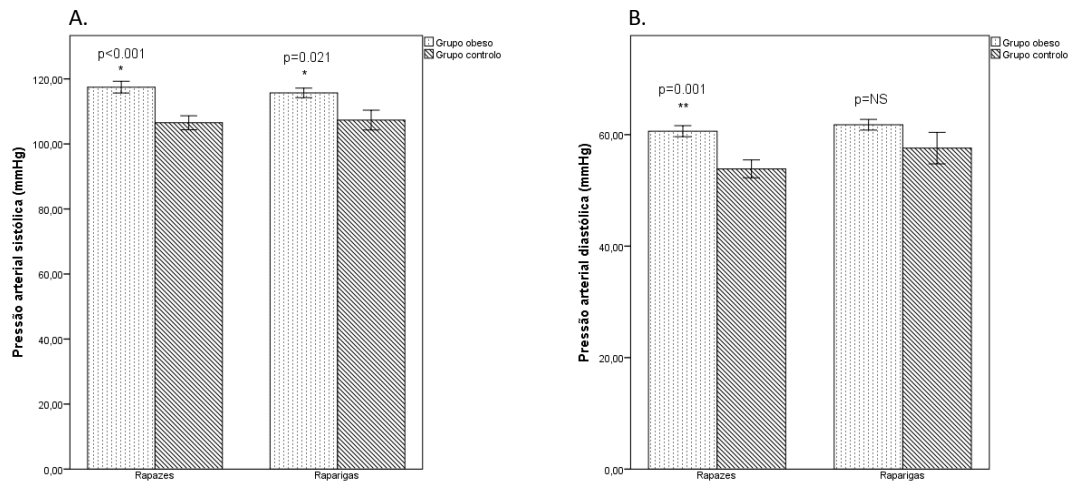


Figura 9- Pressão arterial sistólica [PAS,(A)] e diastólica [PAD, (B)] dos grupos de crianças obesas e não-obesas em função do género. À exceção da pressão arterial diastólica nas raparigas, os componentes da pressão arterial foram significativamente superiores no grupo obeso.

Dados expressos como média±erro padrão da média; *teste t de Student; **teste U de Mann-Whitney; p, nível de significância; NS, valor-p não significativo.

PAS- grupo obeso: rapazes, (N=61); raparigas (N=59); grupo controlo: rapazes, (N=29); raparigas, (N=12).

PAD- grupo obeso: rapazes (N=61); raparigas, (N=59);grupo controlo: rapazes,(N=29); raparigas,(N=12).

Considerando as faixas etárias (pré-adolescentes e adolescentes), os valores da pressão arterial foram superiores no grupo de pré- e adolescentes obesos.

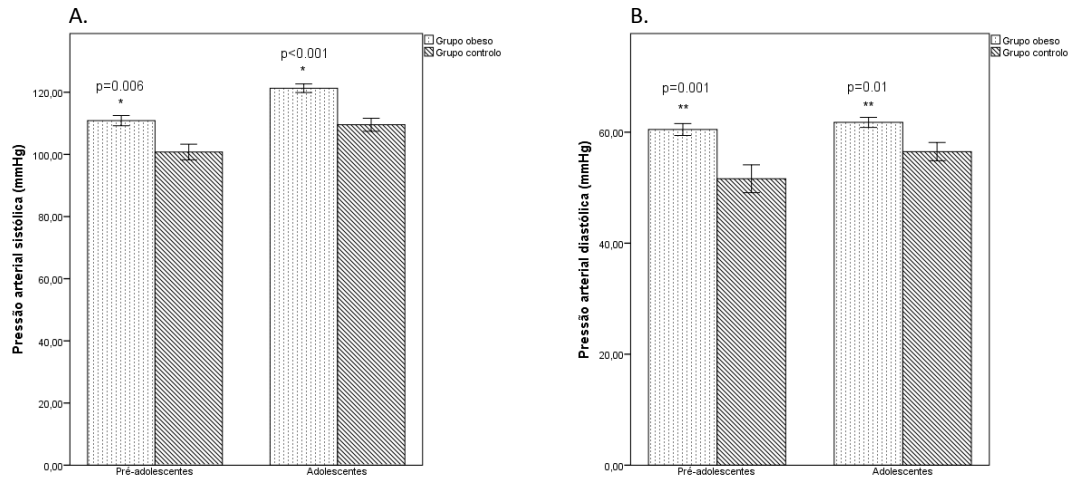


Figura 10- Pressão arterial sistólica [PAs,(A)] e diastólica [PAd, (B)] dos grupos de crianças obesas e não-obesas em função da idade puberal. Quer no grupo dos pré-adolescentes, quer no grupo dos adolescentes, a pressão arterial sistólica e diastólica foi significativamente mais elevada nas crianças obesas.

Dados expressos como média±erro padrão da média; *teste t de Student; **teste U de Mann-Whitney; p, nível de significância.

PAs- grupo obeso: pré-adolescentes, (N=54); adolescentes ,(N=66); grupo controle: pré-adolescentes ,(N=13); adolescentes, (N=28).

PAd- grupo obeso: pré-adolescentes, (N=54); adolescentes, (N=66); grupo controle: pré-adolescentes, (N=13); adolescentes (N=29).

9. AVALIAÇÃO ANALÍTICA

Não evidenciamos diferenças entre os grupos em estudo relativamente aos parâmetros hematológicos, ionograma, transaminases, função tiroideia e função renal.

9.1. Perfil lipídico

À exceção do colesterol total, os níveis séricos dos lípidos e lipoproteínas apresentaram diferenças estatisticamente significativas, evidenciando-se um perfil pró-aterogénico no grupo de crianças obesas: níveis mais elevados de LDL-C, TG, Apo B, Lp(a) e do rácio Apo B/Apo A-I e níveis mais baixos de HDL-C e Apo A-I, conforme se pode observar na Tabela 2.

O perfil lipídico mais característico em crianças obesas consiste em níveis elevados de TG, normais-altos de LDL-C e baixos de HDL-C, que evidenciamos em 10% da nossa população, achado mais frequentemente nos rapazes (13.8% vs 6.8% nas raparigas) e na adolescência, realçando a importância do género como fator de risco cardiovascular, mesmo em crianças.

Tabela 2- Níveis séricos dos lípidos e lipoproteínas nos grupos obeso e controlo

Variável	Grupo obeso		Grupo controlo		valor-p
	N	Média ± EPM	N	Média ± EPM	
CT (mg/dl)	120	166.86±2.522	41	163.83±5.394	NS
HDL-C (mg/dl)	120	47.33±0.90	41	59.17±2.04	<0.001**
LDL-C (mg/dl)	120	96.45±2.44	41	82.71±3.74	0.004*
TG (mg/dl)	120	92.33±4.94	41	59.14±4.28	<0.001**
Apo A-I (g/l)	114	1.34±0.018	33	1.47±0.043	0.004**
Apo B (g/l)	114	0.74±0.016	33	0.66±0.032	0.011**
Lp (a) (mg/dl)	114	27.42±2.56	33	17.6±2.92	0.014*
ApoB/ApoA-I	114	0.56±0.014	33	0.44±0.03	<0.001**

CT, colesterol total; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade, TG, triglicerídeos; Apo A-I, apolipoproteína A-I; Apo B, apolipoproteína B; Lp(a), lipoproteína (a); ApoB/ApoA-I, rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I.

N, número de casos; EPM, erro padrão da média; *teste t de Student; **teste U de Mann-Whitney; valor-p, nível de significância; NS, valor-p não significativo.

Considerando os pontos de cortes propostos pela *National Cholesterol Education Program Expert Panel on Cholesterol Levels in Children* para definição da dislipidémia em idade pediátrica observámos uma prevalência mais elevada de dislipidémia no grupo de crianças obesas (Tabela 3).

Tabela 3- Prevalência de níveis séricos dos lípidos acima da normalidade nos grupos obeso e controlo

Lípidos	Grupo obeso	Grupo controlo
HDL-C < 40mg/dl*	25%	2.4%
LDL-C ≥ 130mg/dl*	10.8%	4.9%
TG		
0-9 years ≥ 100mg/dl*	24.2%	0%
10-19 years ≥ 130mg/dl*	19.5%	5.7%

HDL-C, lipoproteína de baixa densidade; LDL-C, lipoproteína de alta densidade, TG, triglicéridos
 *pontos de corte propostos pela *National Cholesterol Education Program Expert Panel on Cholesterol Levels in Children* para definição de dislipidémia em idade pediátrica.

Quando ajustadas à idade e ao género, por regressão linear, as referidas alterações do perfil lipídico mantiveram-se sobreponíveis, exceto a dos níveis séricos da lipoproteína (a) que perdeu o seu significado estatístico.

As alterações observadas relativamente ao género e faixa etária estão representadas nas Tabelas 4 e 5. Em relação ao género, os rapazes apresentaram um perfil lipídico mais aterogénico, assim como os adolescentes.

Considera-se um fator de risco cardiovascular para a doença coronária se o rácio ApoB/ApoA-I estiver superior a 0.6 e 0.7, nas mulheres e homens adultos, respetivamente. Baseado nestes pontos de corte, verificámos que 38.6% das raparigas obesas e 14.3% dos rapazes obesos tinham rácios acima destes limites.

Tabela 4- Níveis séricos dos lípidos e lipoproteínas dos grupos obeso e controlo em função do género

Género	Variável	Grupo obeso		Grupo controlo		valor-p
		N	Média ± EPM	N	Média ± EPM	
Rapazes	CT (mg/dl)	61	166.44±2.92	29	158.38±6.40	NS
	HDL-C (mg/dl)	61	46.62±1.24	29	57.96±2.47	<0.001**
	LDL-C (mg/dl)	61	97.03±3.07	29	80.31±4.55	0.003*
	TG (mg/dl)	61	97.41±7.75	29	55.41±4.80	<0.001**
	Apo A-I (g/l)	57	1.35±0.024	26	1.48±0.04	0.008**
	Apo B (g/l)	57	0.75±0.019	26	0.63±0.03	<0.001*
	Lp (a) (mg/dl)	57	28.67±3.66	26	17.69±3.46	NS
	ApoB/ApoA-I	57	0.57±0.02	26	0.41±0.03	<0.001*
Raparigas	CT (mg/dl)	59	167.29±4.18	12	177.00±9.33	NS
	HDL-C (mg/dl)	59	48.05±1.30	12	62.09±3.56	<0.001*
	LDL-C (mg/dl)	59	95.84±3.84	12	88.53±6.49	NS
	TG (mg/dl)	59	87.09±6.03	12	68.17±8.70	NS
	Apo A-I (g/l)	57	1.33±0.03	7	1.49±0.13	NS
	Apo B (g/l)	57	0.73±0.03	7	0.78±0.09	NS
	Lp (a) (mg/dl)	57	26.17±3.61	7	17.37±5.35	NS
	ApoB/ApoA-I	57	0.56±0.02	7	0.53±0.07	NS

CT, colesterol total; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade, TG, triglicéridos; Apo A-I, apolipoproteína A-I; Apo B, apolipoproteína B; Lp(a) lipoproteína (a); ApoB/ApoA-I, rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I.

N, número de casos; EPM, erro padrão da média; *teste t de Student; ** teste U de Mann-Whitney; valor-p, nível de significância; NS, valor-p não significativo.

Tabela 5- Níveis séricos dos lípidos e lipoproteínas dos grupos obeso e controle em função da idade puberal

Idade puberal	Variável	Grupo obeso		Grupo controle		valor-p
		N	Média ± EPM	N	Média ± EPM	
Pré-adolescentes	CT (mg/dl)	53	167.09±3.89	9	174.46±9.89	NS
	HDL-C (mg/dl)	53	49.04±1.36	9	63.92±3.19	<0.001**
	LDL-C (mg/dl)	53	96.81±3.76	9	88.85±7.29	NS
	TG (mg/dl)	53	78.98±4.56	9	42.92±4.52	<0.001**
	Apo A-I (g/l)	53	1.36±0.03	9	1.62±0.09	0.005**
	Apo B (g/l)	53	0.74±0.02	9	0.66±0.05	NS
	Lp (a) (mg/dl)	53	28.54±3.82	9	8.70±2.51	0.033**
	ApoB/ApoA-I	53	0.57±0.02	9	0.42±0.03	0.013**
Adolescentes	CT (mg/dl)	60	166.67±3.33	24	158.89±6.33	NS
	HDL-C (mg/dl)	60	45.92±1.17	24	56.97±2.52	<0.001*
	LDL-C (mg/dl)	60	96.15±3.22	24	79.87±4.29	0.001**
	TG (mg/dl)	60	103.24±7.95	24	66.68±5.38	0.003**
	Apo A-I (g/l)	60	1.32±0.02	24	1.43±0.05	0.041**
	Apo B (g/l)	60	0.75±0.02	24	0.65±0.04	0.043*
	Lp (a) (mg/dl)	60	26.44±3.48	24	20.97±3.70	NS
	ApoB/ApoA-I	60	0.57±0.02	24	0.45±0.04	<0.001**

CT, colesterol total; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade, TG, triglicerídeos; Apo A-I, apolipoproteína A-I; Apo B, apolipoproteína B; Lp(a), lipoproteína (a); ApoB/ApoA-I, rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I.

N,número de casos; EPM,erro padrão da média ;*teste t de Student;** teste U de Mann-Whitney; valor-p, nível de significância; NS, valor-p não significativo.

9.2. Glicose, insulina e índice de insulino-resistência

Para aferir insulino-resistência estimou-se o HOMAR-IR baseado nos níveis séricos em jejum de glicose e insulina. Em relação aos níveis séricos de glicose não se observaram diferenças significativas entre os grupos em estudo (Tabela 6). A insulinémia (Tabela 6) e implicitamente o HOMA-IR, foram significativamente superiores no grupo obeso (Figura 11) e nos rapazes (Figura 12).

A relação entre o grupo obeso e o HOMA-IR manteve-se significativa mesmo após ajuste ao género ($r=0.280$, $p=0.001$).

Baseado no valor de HOMA-IR >3 , 38.1% da população obesa era insulino-resistente, 44.1% raparigas e 21.7 % rapazes, não havendo diferenças significativas entre faixas etárias.

Na avaliação comparativa em função do género e faixa etária, o aumento da HOMA-IR manteve-se no grupo obeso, excetuando nas raparigas, conforme se pode observar na Figura 12.

Tabela 6- Glicémia e insulinémia nos grupos obeso e controlo

Variável	Grupo obeso		Grupo controlo		valor-p
	N	Média \pm EPM	N	Média \pm EPM	
Glicose (mmol/l)	119	4.82 \pm 0.03	35	4.73 \pm 0.07	NS
Insulina (μ UI/ml)	119	12.95 \pm 0.74	33	7.32 \pm 0.75	<0.001**

N, número de casos; EPM, erro padrão da média; valor-p, nível de significância; NS, valor-p não significativo; **teste U de Mann-Whitney.

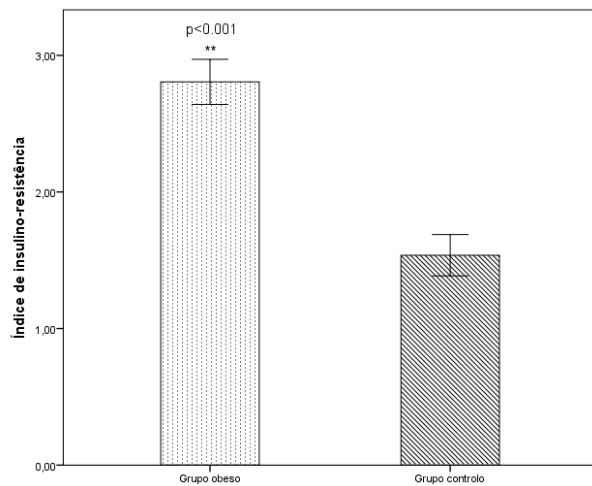


Figura 11- Índice de insulino-resistência (HOMA-IR) nos grupos obeso e controlo, evidenciando-se um valor significativamente mais elevado nas crianças obesas. Baseado num valor de HOMA-IR >3, 38.1% da população obesa foi considerada insulino-resistente.

HOMA-IR, *homeostasis model assessment- insulin resistance*.

Dados expressos como média ± erro padrão da média; **teste U de Mann-Whitney; p, nível de significância.

Grupo obeso, (N=119); grupo controlo, (N=33).

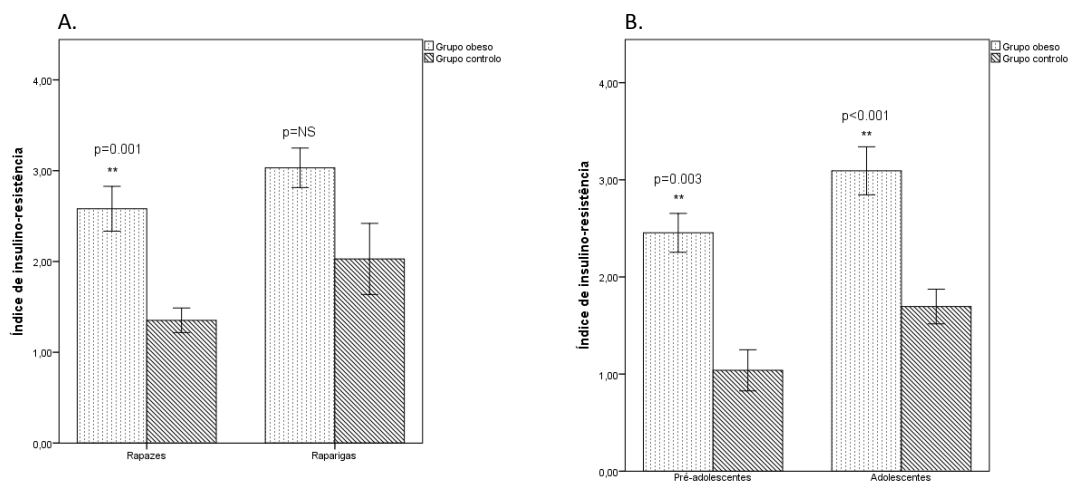


Figura 12- Índice de insulino-resistência (HOMA-IR) em função do género (A) e idade puberal (B).

A avaliação por sub-grupos (género e faixa etária) mostrou que o HOMA-IR manteve alterações estatisticamente significativas, mais pronunciadas nas crianças obesas, à exceção das raparigas.

HOMA-IR, *homeostasis model assessment-insulin resistance*.

Dados expressos como média ± erro padrão da média; **teste U de Mann-Whitney; p, nível de significância; NS, valor-p não significativo.

Grupo obeso- rapazes,(N=59); raparigas, (N=59); pré-adolescentes, (N= 53); adolescentes, (N=65).

Grupo controlo- rapazes, (N=24); raparigas,(N=9); pré-adolescentes,(N= 8); adolescentes, (N=25).

9.3. Adipocinas e marcadores inflamatórios

Conforme representado na Tabela 7, as adipocinas e os marcadores Inflamatórios, excetuando a MCP-1, apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em estudo. Em 62.7% da população obesa, a PCRus encontrava-se superior a 0.1mg/dl e em 35.6%, acima de 0.3mg/dl.

Tabela 7- Níveis séricos de adipocinas e marcadores inflamatórios dos grupos de crianças obesas e não-obesas

Variável	Grupo obeso		Grupo controlo		valor-p**
	N	Média ± EPM	N	Média ± EPM	
Adiponectina (µg/ml)	95	3.55±0.14	32	5.17±0.41	<0.001
Leptina (ng/ml)	118	28.87±1.63	40	4.85±0.71	<0.001
PCRus (mg/dl)	118	0.28±0.03	40	0.05±0.01	<0.001
MCP-1 (pg/ml)	65	331.54±46.49	31	304.53±48.33	NS

PCRus, proteína C-reativa ultra-sensível; MCP-1, proteína quimioatrativa dos monócitos-1. N, número de casos; EPM, erro padrão da média; valor-p, nível de significância; NS, valor-p não significativo; **teste U de Mann-Whitney.

Observámos níveis mais elevados de leptina e PCRus no grupo de crianças obesas e de adiponectina no grupo controlo, padrão que se manteve após sub-divisão por género e faixa etária (Figuras 13 e 14).

No grupo de crianças obesas, a adiponectina manteve-se significativamente correlacionada após ajuste à idade ($r=-0.443$, $p<0.001$) e a leptina após ajuste ao género ($r=0.287$, $p<0.001$). A PCRus manteve-se significativamente correlacionada com a obesidade independentemente da idade ou género.

A sub-divisão em função do género mostrou que, quer os níveis séricos de leptina (29.6ng/ml vs 17.2ng/ml; $p<0.001$) quer da adiponectina (4.1µg/ml vs 3.8 µg/ml; $p=0.006$) encontravam-se superiores nas raparigas.

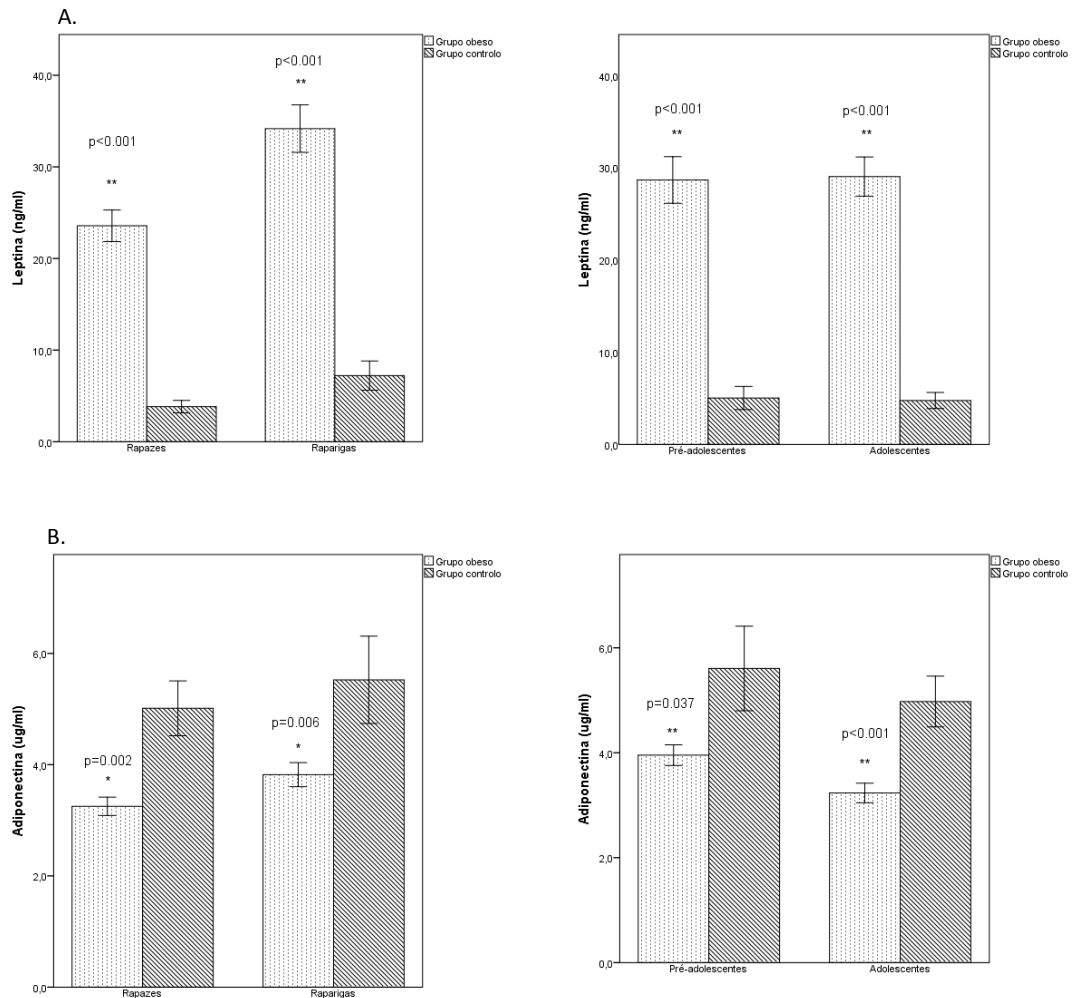


Figura 13- Níveis séricos de leptina (A) e de adiponectina (B) em função do género e idade puberal. As alterações observadas contribuem para o mecanismo fisiopatológico da obesidade, evidenciando-se em idades precoces.

Dados expressos como média±erro padrão da média;*teste t de Student;**teste U de Mann-Whitney; ; p- nível de significância.

Adiponectina- grupo obeso: rapazes, (N=46); raparigas, (N=49); pré-adolescentes, (N=41); adolescentes, (N=54); grupo controlo: rapazes, (N=22); raparigas, (N=10); pré-adolescentes, (N=10); adolescentes, (N=22).

Leptina-grupo obeso:rapazes,(N=59);raparigas, (N=59); pré-adolescentes, (N=54); adolescentes, (N=64); grupo controlo: rapazes, (N=28); raparigas, (N=12); pré-adolescentes, (N=12), adolescentes, (N=28).

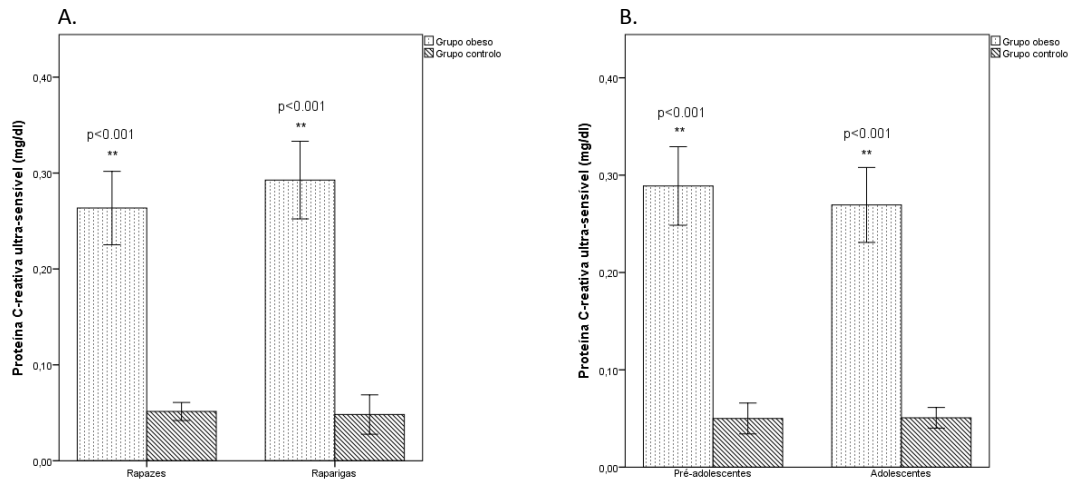


Figura 14- Níveis séricos da proteína C-reativa ultra-sensível(PCRus) em função do género (A) e da idade puberal (B). A obesidade caracteriza-se por um processo inflamatório de baixo grau, no qual a PCRus tem um papel importante. Estas alterações já se encontram patentes durante a infância, independentemente do género ou faixa etária conforme se evidencia neste estudo.

Dados expressos como média±erro padrão da média; ** teste U de Mann-Whitney; p- nível de significância.

Grupo obeso: rapazes,(N=59); raparigas, (N=59); pré-adolescentes, (N=53); adolescentes, (N=65).

Grupo controlo: rapazes, (N= 29); raparigas, (N=11); pré-adolescentes, (N=12);adolescentes, (N=28).

9.4. E-selectina

A E-selectina, um marcador precoce da ativação endotelial, apresentou níveis significativamente mais elevados no grupo de crianças obesas (Figura 15), mantendo esta diferença após ajuste ao género ($r=0.307$, $p<0.001$).

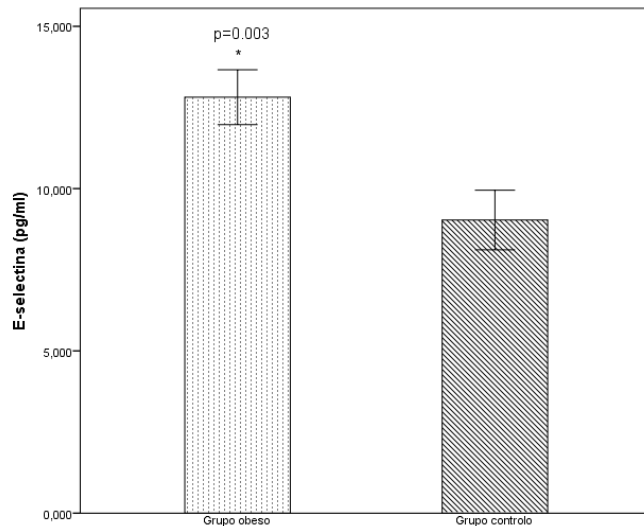


Figura 15- Níveis séricos de E-selectina. A E-selectina encontra-se elevada na ativação endotelial e promove a adesão de células inflamatórias ao endotélio, contribuindo para o processo aterosclerótico. No nosso estudo, os níveis de E-selectina foram significativamente mais elevados no grupo de crianças obesas, o que sugere que a ativação endotelial se manifesta precocemente neste grupo de risco. Dados expressos como média±erro padrão da média; p- nível de significância; *teste t de Student Grupo obeso, (N=77); grupo controlo, (N=30).

Relativamente à comparação entre géneros e faixas etárias, as diferenças mantiveram-se apenas no grupo de rapazes e nos adolescentes (Figura 16).

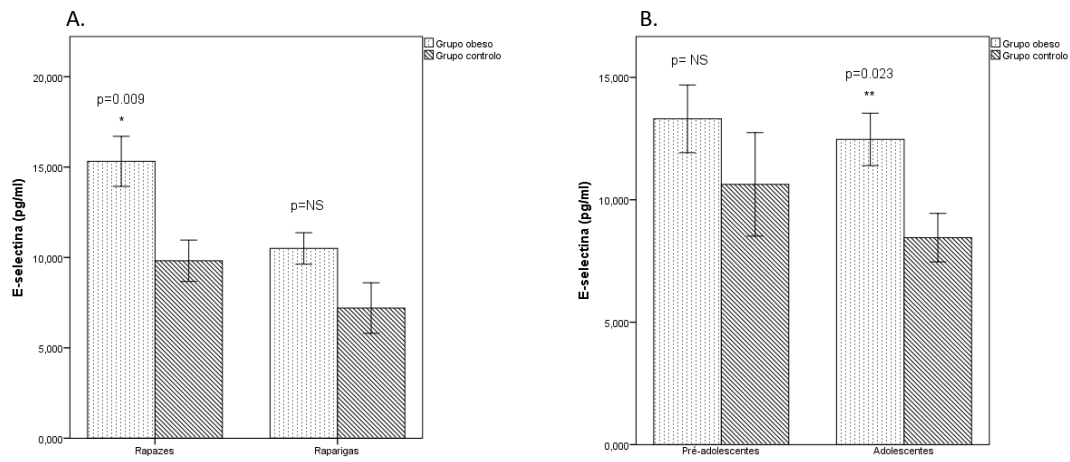


Figura 16- Níveis séricos de E-Selectina em função do género (A) e da idade puberal (B). Estes níveis foram mais elevados no grupo obeso, no entanto, nas raparigas e nos pré-adolescentes não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Dados expressos como média±erro padrão da média; p, nível de significância; NS, valor-p não significativo; *teste t de Student; **teste U de Mann-Whitney.

Grupo obeso- rapazes, (N=37); raparigas, (N=40); pré-adolescentes, (N=32); adolescentes (N=45).

Grupo controlo- rapazes, (N= 21); raparigas, (N=9); pré-adolescentes, (N=8); adolescentes (N=22).

9.5. Dimetilarginina assimétrica e número de células progenitoras endoteliais circulantes

Os níveis séricos de dimetilarginina assimétrica foram significativamente mais elevados no grupo de crianças obesas (Figura 17). Quando ajustada à idade, a ADMA manteve uma correlação significativa ($r=0.244$, $p=0.012$) no grupo de crianças obesas.

Estes resultados sugerem que, potencialmente, a biodisponibilidade do óxido nítrico possa estar comprometida nesta faixa etária.

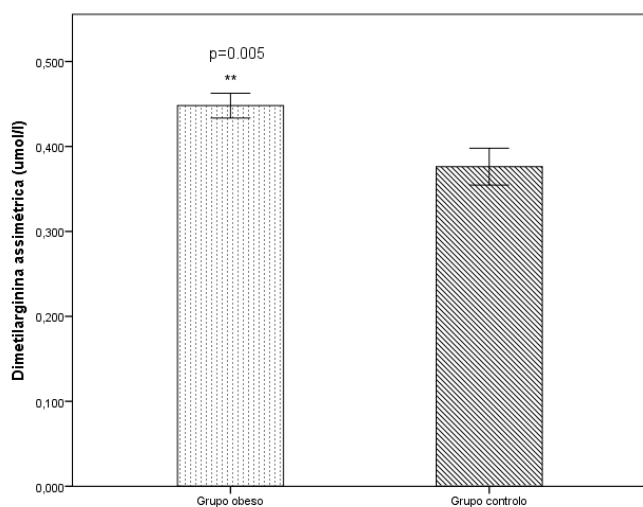


Figura 17- Níveis séricos da dimetilarginina assimétrica (ADMA) nos grupos obeso e controle. Os níveis séricos da ADMA foram mais elevados no grupo de crianças obesas em relação às não-obesas, podendo, potencialmente, comprometer a biodisponibilidade do óxido nítrico.

Dados expressos como média±erro padrão da média; p- nível de significância; **teste U de Mann-Whitney.

Grupo obeso, (N=76); grupo controle, (N=31).

No nosso estudo esta diferença manteve-se significativa nas raparigas e nos adolescentes, como expresso na Figura 18.

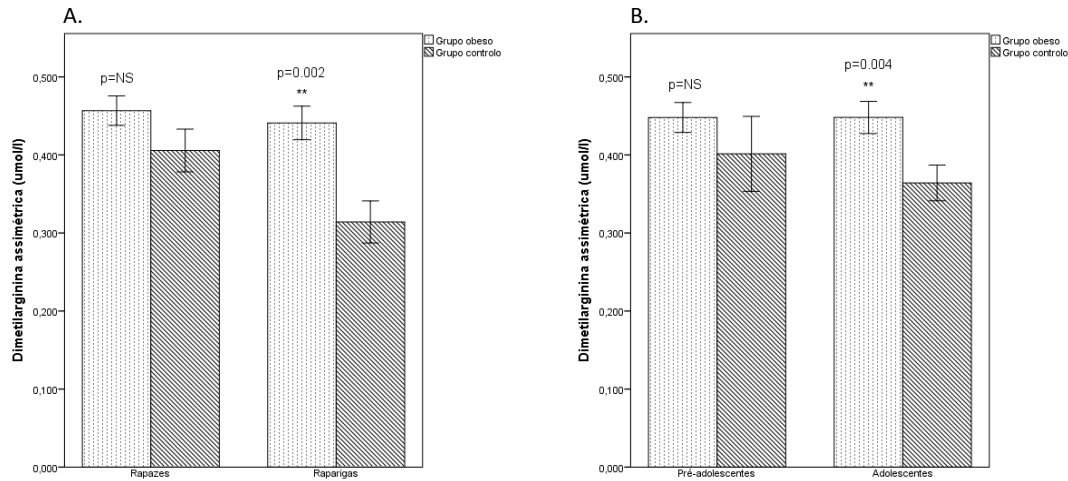


Figura 18- Níveis séricos de dimetilarginina assimétrica (ADMA) em função do género (A) e da idade puberal (B).

Apesar dos níveis séricos serem mais elevados no grupo obeso, esta diferença foi apenas significativa nas raparigas e nos adolescentes obesos.

Dados expressos como média±erro padrão da média; p, nível de significância; NS, valor-p não significativo; **teste U de Mann-Whitney.

Grupo obeso- rapazes, (N=34); raparigas, (N=42); pré-adolescentes, (N=30); adolescentes, (N=46).

Grupo controlo- rapazes, (N=21); raparigas, (N=10); pré-adolescentes, (N= 10); adolescentes, (N=21).

Da mesma forma, observámos que o número de células progenitoras endoteliais circulantes (Figura 19) é significativamente maior nas crianças obesas (p=0.007), implicando que a capacidade dos mecanismos reparadores do endotélio está mantida durante a infância.

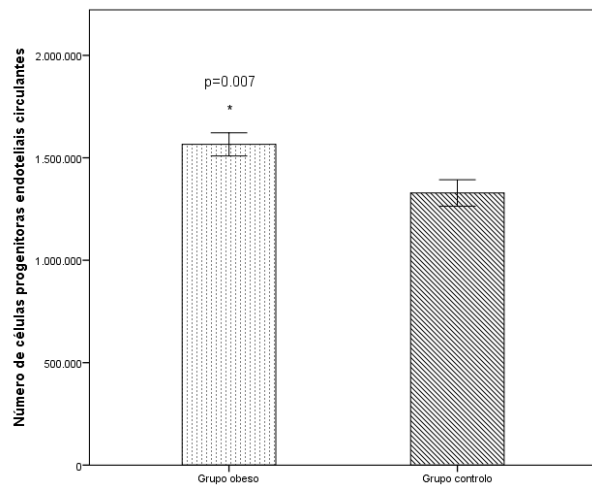


Figura 19- Número de células progenitoras endoteliais circulantes (EPCs). O número destas células foi mais elevado no grupo de crianças obesas, em relação às não-obesas, sugerindo que a capacidade regenerativa do endotélio, neste grupo de risco, mantém-se íntegra numa fase precoce da disfunção do endotélio.

Dados expressos como média±erro padrão da média; p- nível de significância; *teste t de Student. Grupo obeso, (N=100); grupo controlo, (N= 29).

Esta diferença manteve-se significativa nos rapazes e adolescentes, como é possível observar na Figura 20.

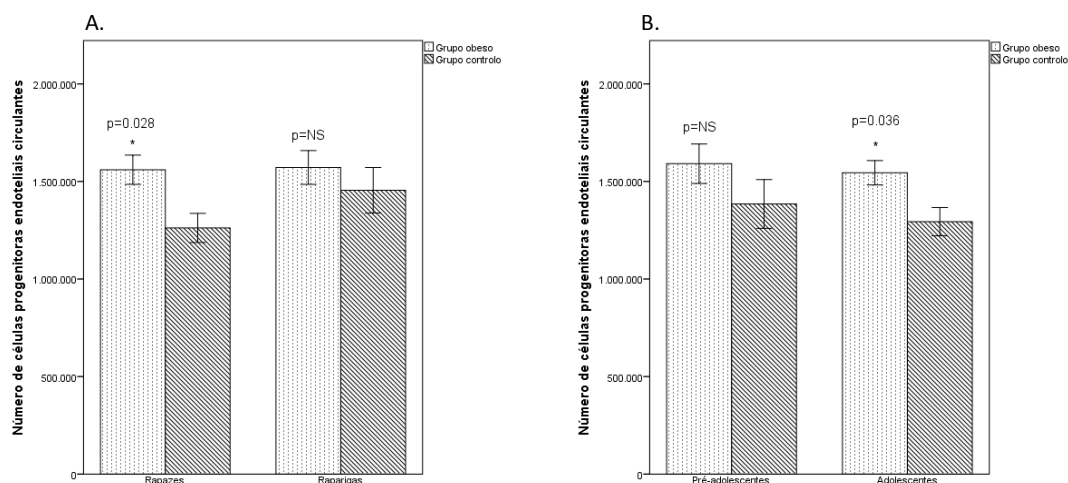


Figura 20- Número de células progenitoras endoteliais circulantes (EPCs), em função do género (A) e da idade puberal (B). Baseado nos achados deste estudo, nas crianças obesas, a ativação endotelial aparenta condicionar uma resposta reparadora evidenciada pelo aumento significativo do número de EPCs, particularmente nos rapazes e adolescentes.

Dados expressos como média±erro padrão da média; p, nível de significância; NS, valor-p não significativo; *teste t de Student.

Grupo obeso- rapazes, (N=52); raparigas, (N=48); pré-adolescentes, (N=45); adolescentes, (N=55).

Grupo controlo- rapazes, (N=19); raparigas, (N=10); pré-adolescentes, (N= 11); adolescentes, (N=18).

10. AVALIAÇÃO ECOCARDIOGRÁFICA DO VENTRÍCULO ESQUERDO: GEOMETRIA VENTRICULAR

Os diâmetros diastólicos do ventrículo esquerdo e respetiva massa ventricular (MVE) foram avaliados para aferir o índice de massa ventricular esquerda (IMVE) e a espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo (ERP). A partir destes parâmetros objetivámos a geometria ventricular, nomeadamente, normal, hipertrofia concêntrica, eccêntrica e remodelamento concêntrico, nos grupos em estudo.

Do ponto de vista funcional, não encontramos alterações, quer da função sistólica, quer da função diastólica do ventrículo esquerdo, em ambos os grupos. O mesmo se verificou em relação à pressão sistólica da artéria pulmonar.

Verificámos um aumento significativo no grupo de crianças obesas relativamente ao DSVE e ao PPVE, como se pode observar na Figura 21. Como havia diferenças significativas nas idades e géneros entre grupos, realizamos nova avaliação, ajustando à idade e ao género, e verificámos que nas crianças obesas o DDVE também se correlacionava significativamente (idade: $r=0.295$, $p<0.001$; género: $r=0.159$; $p=0.044$), assim como os parâmetros acima referidos.

O aumento do DDVE enquadra-se na sobrecarga de volume típica da obesidade.

Na figura 22 estão apresentadas estas diferenças, em função do género e faixa etária, e observámos que, em relação ao género, as raparigas obesas apresentaram alterações significativas, assim como os pré e adolescentes obesos, relativamente aos respetivos grupos controlo.

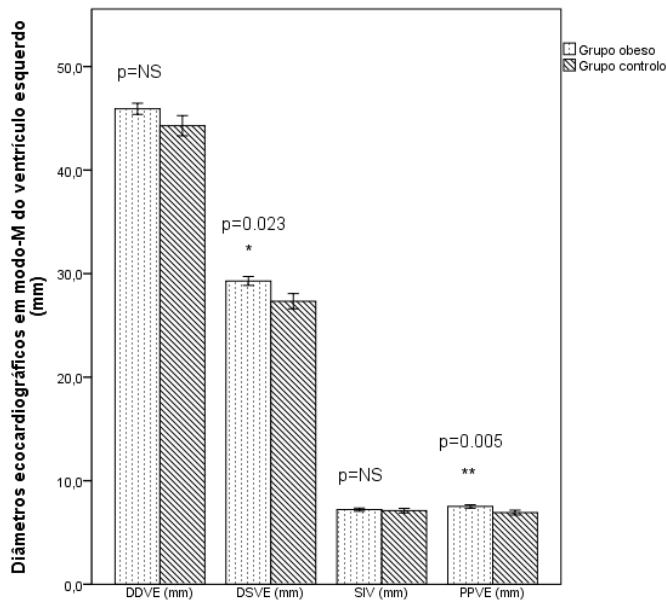


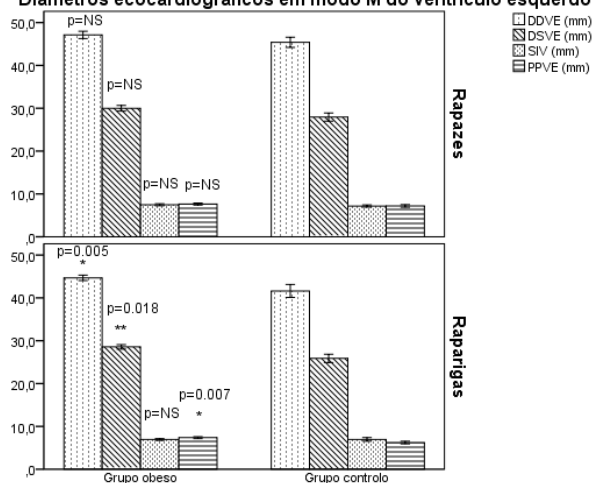
Figura 21- Diâmetros ecocardiográficos, em Modo-M, do ventrículo esquerdo. Relativamente aos diâmetros ventriculares esquerdos, as alterações mais evidentes incidiram sobre o DSVE e o PPVE. No entanto, a avaliação por regressão logística, ajustando à idade e género, mostrou um aumento do DDVE nas crianças obesas, parâmetro que melhor se enquadra na sobrecarga de volume que caracteriza a obesidade.

DDVE, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE, diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; SIV, diâmetro diastólico do septo interventricular; PPVE, diâmetro diastólico da parede posterior do ventrículo esquerdo.

Dados expressos como média±erro padrão da média; p, nível de significância; NS, valor-p não significativo; *teste T de Student; **teste de U Mann-Whitney.

Grupo obeso, (N=120); grupo controle, (N=41).

A.
Diâmetros ecocardiográficos em modo M do ventrículo esquerdo (mm)



B.

Diâmetros ecocardiográficos em modo M do ventrículo esquerdo (mm)

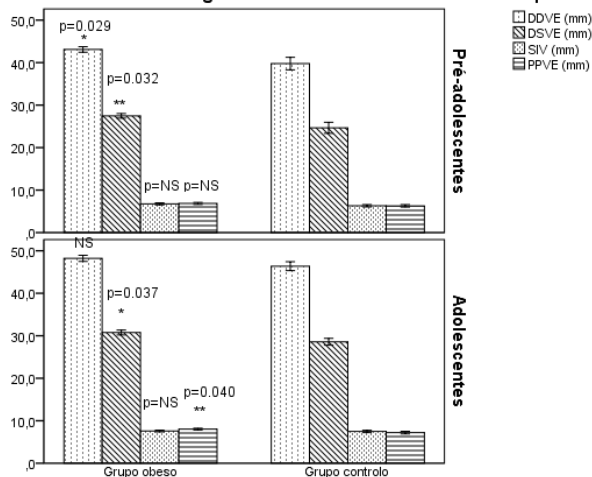


Figura 22- Diâmetros ecocardiográficos, em modo-M, do ventrículo esquerdo, em função do género (A) e da idade puberal (B). Os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo em modo M apresentaram apenas diferenças significativas no DSVE e no PPVE. Quando avaliados em função do género, as raparigas obesas apresentaram alterações mais significativas, assim como os pré- e adolescentes obesos comparativamente aos respetivos grupos controlo.

Dados expressos como média±erro padrão da média; p, nível de significância; NS, valor-p não significativo; *teste t de Student; **test U de Mann-whitney.

Grupo obeso- rapazes, (N=61); raparigas, (N=59); pré-adolescentes, (N=54); adolescentes, (N=66).

Grupo controlo- rapazes, (N=29); raparigas, (N=12); pré-adolescentes, (N= 13); adolescentes, (N=28).

A MVE e a ERP não apresentaram diferenças significativas entre os dois grupos em estudo. No entanto, após ajustado à idade e género, a MVE passou a apresentar diferenças significativas ($r=0.331$, $p<0.001$), mais elevado no grupo obeso.

O IMVE também apresentou diferenças significativas ($r=0.314$, $p<0.001$), mais elevado no grupo obeso relativamente ao grupo controlo e de forma independente da

idade e do género (Figura 23). À semelhança do adulto, o IMVE pode, potencialmente, aferir RCV em idade pediátricas. Baseado no IMVE, constatámos que 31.7% das crianças obesas tinham critérios de hipertrofia ventricular esquerda. A geometria ventricular esquerda, aferida pelo rácio do IMVE e da ERP estava alterada em cerca de 40% desta população, em que, 21.7% tinham hipertrofia ventricular excêntrica (indo ao encontro de uma maior sobrecarga de volume típica da obesidade), 10% tinham hipertrofia ventricular concêntrica e 8% tinham remodelação cardíaca.

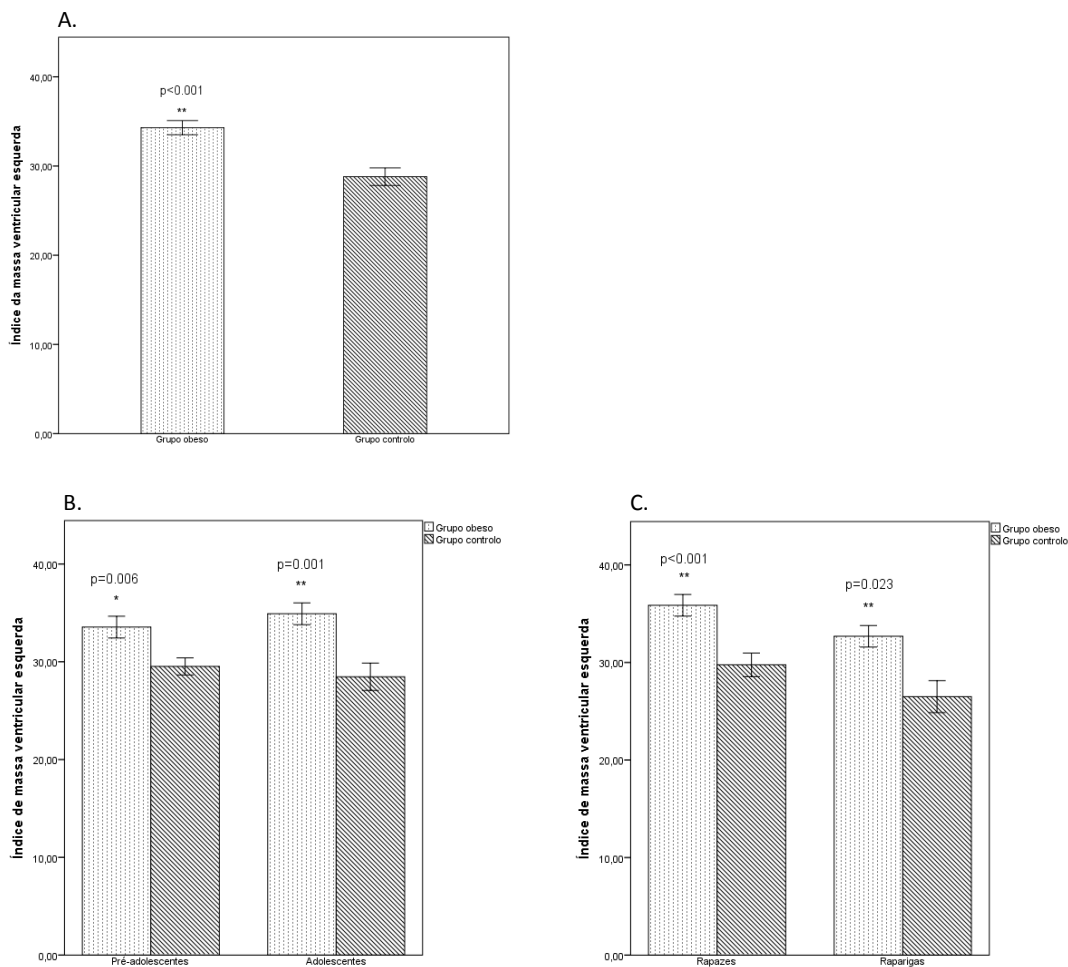


Figura 23- Índice de massa ventricular esquerda (IMVE), dos grupos obeso e controlo (A) em função da idade puberal (B) e do género (C). O IMVE é um parâmetro que se relaciona com eventos cardiovasculares adversos na vida adulta. No entanto, em crianças obesas, conforme demonstrado neste estudo, este parâmetro já se encontra significativamente mais elevado, em relação ao grupo controlo, independente do género ou da faixa etária.

Dados expressos como média ± erro padrão da média; p- nível de significância; *teste t de Student; **teste U de Mann-Whitney.

Grupo obeso, (N=120), grupo controlo, (N=41).

Grupo obeso- rapazes, (N=61); raparigas, (N=59); pré-adolescentes, (N=54); adolescentes, (N=66).

Grupo controlo- rapazes (N=29); raparigas, (N=12); pré-adolescentes, (N= 13); adolescentes, (N=28).

11. ESPESSURA DA CAMADA ÍNTIMA-MÉDIA DA ARTÉRIA CARÓTIDA COMUM

A avaliação da espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum (cIMT) mostrou, no grupo obeso, um aumento significativo em relação ao grupo controlo, conforme demonstrado na Figura 24A, diferença que se manteve após ajuste à idade ($r=0.289$, $p<0.001$), também independentemente do género.

A sub-divisão por género e idade puberal demonstrou que as diferenças mantinham-se superiores no grupo obeso em relação aos respetivos grupos controlo (Figura 24B e 24C). Tal como nos adultos, este parâmetro poderá ser utilizado para estratificação de RCV nas crianças obesas.

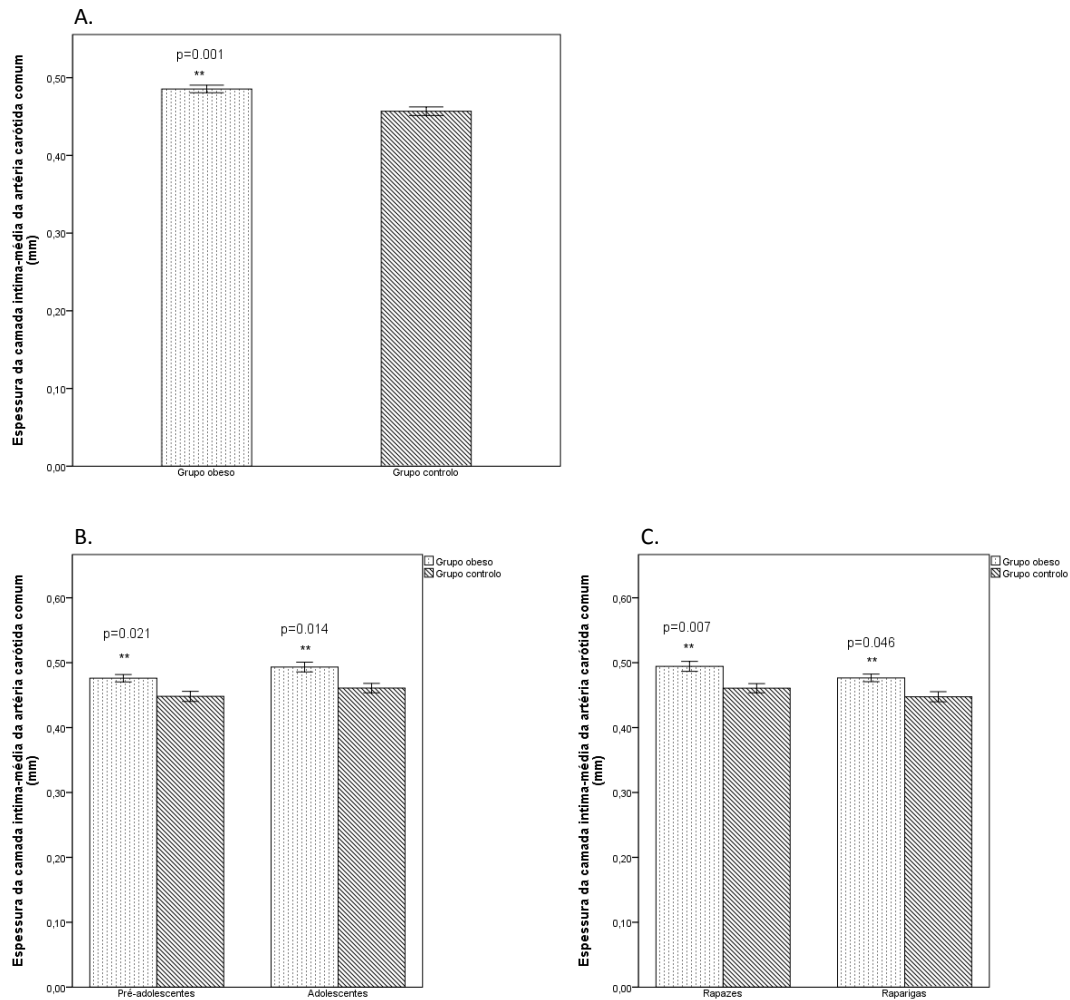


Figura 24- Espessura da camada intima-média da artéria carótida comum (cIMT) dos grupos obeso e controlo (A) em função da idade puberal (B) e do género (C). Observámos diferenças estatisticamente significativas em relação ao cIMT, no grupo obeso, podendo, implicitamente, este parâmetro ser utilizado para estratificação de risco em crianças com obesidade.

Dados expressos como média \pm erro padrão da média; p- nível de significância; **teste U de Mann-Whitney.

Grupo obeso, (N=119), grupo controlo, (N=41).

Grupo obeso- rapazes, (N=60); raparigas, (N=59); pré-adolescentes, (N=54); adolescentes, (N=65).

Grupo controlo- rapazes (N=29); raparigas, (N=12); pré-adolescentes, (N= 13); adolescentes, (N=28).

CORRELAÇÕES

Na avaliação global foi analisada a correlação entre todas as variáveis e sempre que, pelo menos uma delas estava relacionada com a idade e/ou gênero através da regressão linear ou correlação parcial, esta correlação foi ajustada ao gênero e à idade.

Os parâmetros que se correlacionaram com a idade foram: índice de massa corporal, circunferência abdominal, pressão arterial sistólica, triglicerídeos, adiponectina, proteína quimioatrativa dos monócitos-1, dimetilarginina assimétrica, massa ventricular esquerda, índice de massa ventricular esquerda, diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo, diâmetro do septo interventricular, diâmetro do septo interventricular, diâmetro diastólico da parede posterior do ventrículo esquerdo e espessura da camada média-intima da artéria carótida comum.

Os parâmetros que se correlacionaram com o gênero foram: percentagem de massa gorda, circunferência abdominal, leptina, índice de insulino-resistência, E-selectina, massa ventricular esquerda e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo.

A fim de considerarmos a importância do gênero no contexto deste estudo, procedemos à sub-divisão dos grupos por gêneros. De igual forma, a idade apresentou diferenças significativas entre gêneros, pelo que aplicámos, aos parâmetros em análise, os princípios estatísticos acima referidos. Os resultados apresentados já contemplam esta análise e, nos casos em que a correlação perdeu significado estatístico, esta informação está referida no texto.

Nos rapazes, a idade correlacionou-se significativamente com os seguintes parâmetros: índice de massa corporal, circunferência abdominal, percentagem de massa gorda, leptina, adiponectina, proteína quimioatrativa dos monócitos-1, E-selectina, apolipoproteína B, pressão arterial sistólica, colesterol total, lipoproteína de baixa densidade, massa ventricular esquerda, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo, diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo, diâmetro diastólico do septo interventricular e diâmetro diastólico da parede posterior do ventrículo esquerdo.

Nas raparigas, a idade correlacionou-se significativamente com os seguintes parâmetros: circunferência abdominal, pressão arterial sistólica, triglicerídeos, adiponectina, massa ventricular esquerda, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo,

diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo, diâmetro diastólico da parede posterior do ventrículo esquerdo e espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum.

1. ÍNDICES DE ADIPOSIDADE

Os marcadores da obesidade contemplados na análise foram o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda e a circunferência abdominal.

Conforme se pode observar na Figura 25, todos os marcadores de adiposidade se correlacionaram, no sentido direto, sendo que o IMC e a CA_{Abd} apresentaram a correlação mais forte.

Observando, no geral, a Tabela 8, o IMC correlacionou-se, ou no sentido direto, ou no sentido inverso, com todos os parâmetros avaliados neste estudo [exceto a Lp(a)]. O mesmo foi observado relativamente à %MG (exceto com a MCP-1, o DDVE, o DSVE e o SIV), e à CA_{Abd} (exceto com a MCP-1, a E-selectina e o SIV). Pela sua importância, abordaremos individualmente as correlações mais significativas, incluindo a sub-divisão por género, que serão graficamente representadas.

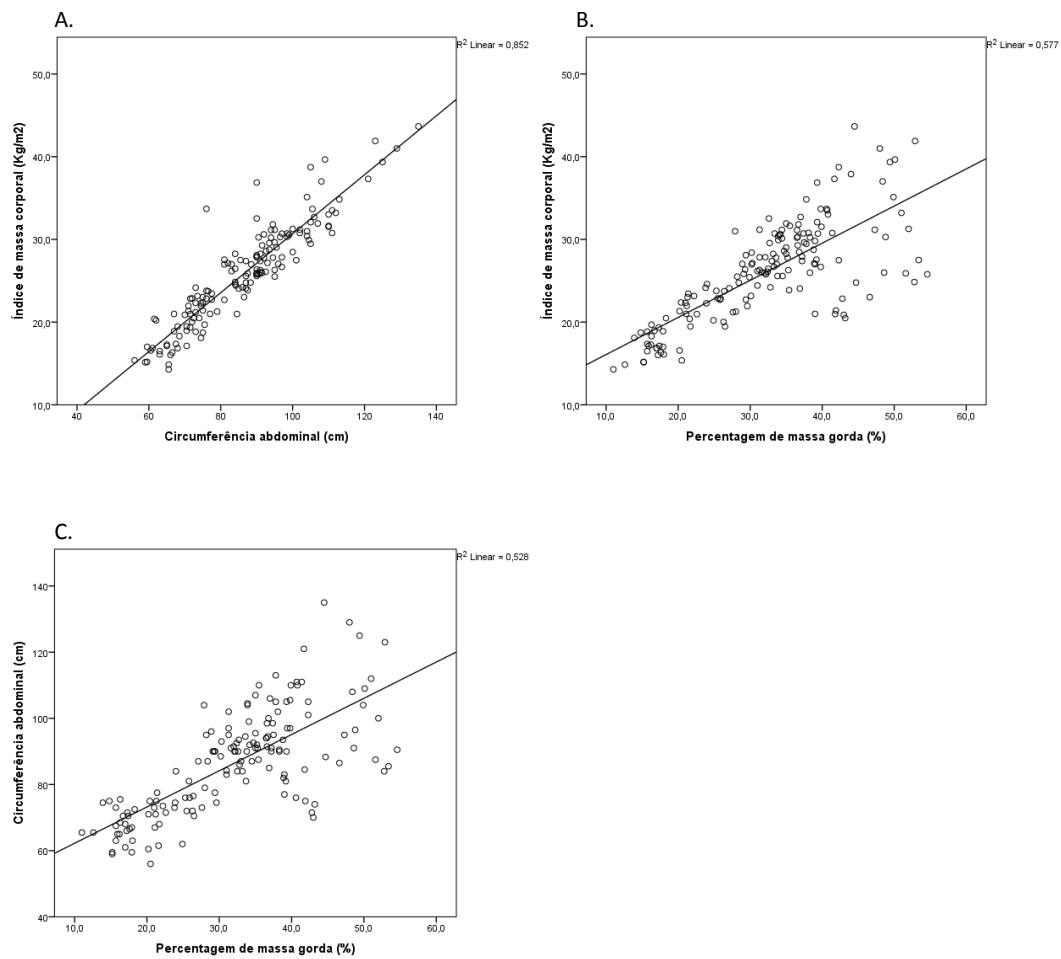


Figura 25- Intercorrelação entre os marcadores de adiposidade: índice de massa corporal (IMC), porcentagem de massa gorda (%MG) e circunferência abdominal (CAbd). Neste estudo, a correlação mais forte ocorreu entre o IMC e a CAbd (A), ao contrário da %MG, cuja correlação com o IMC (B) e a %MG (C) foi moderada.

R² linear, coeficiente de determinação.

IMC, (N=161); %MG, (N=161);CAbd, (N=152).

Tabela 8- Correlações entre os marcadores da adiposidade e os parâmetros estudados

	N	IMC (Kg/m ²)	N	%MG	N	CAbd (cm)
PAs (mmHg)	161	0.558***§	161	0.355***§	152	0.565***§
PAd (mmHg)	161	0.323***‡	161	0.317***‡	152	0.374***‡
HDL-C (mg/dl)	161	-0.451***§	161	-0.391***§	152	-0.454***§
LDL-C (mg/dl)	161	0.250**§	161	0.258**§	152	0.252**§
TG (mg/dl)	161	0.300***§	161	0.291***§	152	0.325***§
ApoA-I (g/l)	147	-0.290***§	147	-0.245**§	138	-0.272**§
ApoB (g/l)	147	0.244**§	147	0.243**§	138	0.248**§
Lp(a) (mg/dl)	147	0.016	147	0.112	138	0.072
ApoB/ApoA-I	146	0.378***§	146	0.358***§	137	0.371***§
HOMA-IR	151	0.462***‡	151	0.455***‡	143	0.459***‡
Leptina (ng/ml)	158	0.691***§	158	0.711***§	149	0.693***§
Adiponectina(µg/ml)	127	-0.419***‡	127	-0.317***‡	122	-0.448***‡
PCRus (mg/dl)	158	0.507***§	158	0.535***§	149	0.496***§
MCP-1(pg/ml)	96	0.235*‡	96	0.041	92	0.142
E-selectina (pg/ml)	107	0.190*‡	107	0.256**‡	104	0.132
ADMA (µmol/l)	107	0.202*§	107	0.290**§	104	0.200*§
EPCs	129	0.197*§	129	0.233**§	121	0.222*§
DDVE (mm)	161	0.469***‡	161	0.091	152	0.432***‡
DSVE (mm)	161	0.458**‡	161	0.132	152	0.437**‡
SIV (mm)	161	0.165*‡	161	0.109	152	0.138
PPVE (mm)	161	0.348***‡	161	0.198*‡	152	0.320**‡
MVE (g)	161	0.492***‡	161	0.174*‡	152	0.455***‡
IMVE	161	0.382***‡	161	0.290***‡	152	0.254**‡
cIMT (mm)	160	0.319***§	160	0.243**§	151	0.332***§

IMC, índice de massa corporal; %MG, porcentagem de massa gorda; CAbd, circunferência abdominal; PAs, pressão arterial sistólica; PAd, pressão arterial diastólica; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; TG, triglicerídeos; Apo A-I, apolipoproteína A-I; Apo B, apolipoproteína B; Lp(a), lipoproteína (a); ApoB/ApoA-I, rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I; HOMA-IR, *homeostasis model assessment-insulin resistance*; PCRus, proteína C-reativa ultrasensível; MCP-1, proteína quimioatrativa dos monócitos-1; ADMA, dimetilarginina assimétrica; EPCs, número de células progenitoras endoteliais circulantes; DDVE, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE, diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; SIV, diâmetro diastólico do septo interventricular; PPVE, diâmetro diastólico da parede posterior do ventrículo esquerdo; MVE, massa ventricular esquerda; IMVE, índice de massa ventricular esquerda; cIMT, espessura da camada intima-média da artéria carótida comum.

N, número de casos; § Rô de Spearman; ‡ correlação de Pearson.

p* < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001.

1.1. Correlação entre os índices de adiposidade e a pressão arterial

Como se pode observar na Tabela 8, verificou-se uma correlação direta entre os índices de adiposidade e a pressão arterial, particularmente com o componente sistólico.

Dos índices de adiposidade, a circunferência abdominal foi o marcador que mais significativamente se relacionou com a pressão arterial sistólica e diastólica (Figura 26). Quando ajustados à idade, os índices de adiposidade mantiveram correlações significativas com a pressão arterial sistólica (IMC: $r=0.472$, $p<0.001$; %MG: $r=0.448$, $p<0.001$; CAbd: $r=0.496$, $p<0.001$) e a pressão arterial diastólica (IMC: $r=0.305$, $p<0.001$; %MG: $r=0.330$, $p<0.001$; CAbd: $r=0.364$, $p<0.001$).

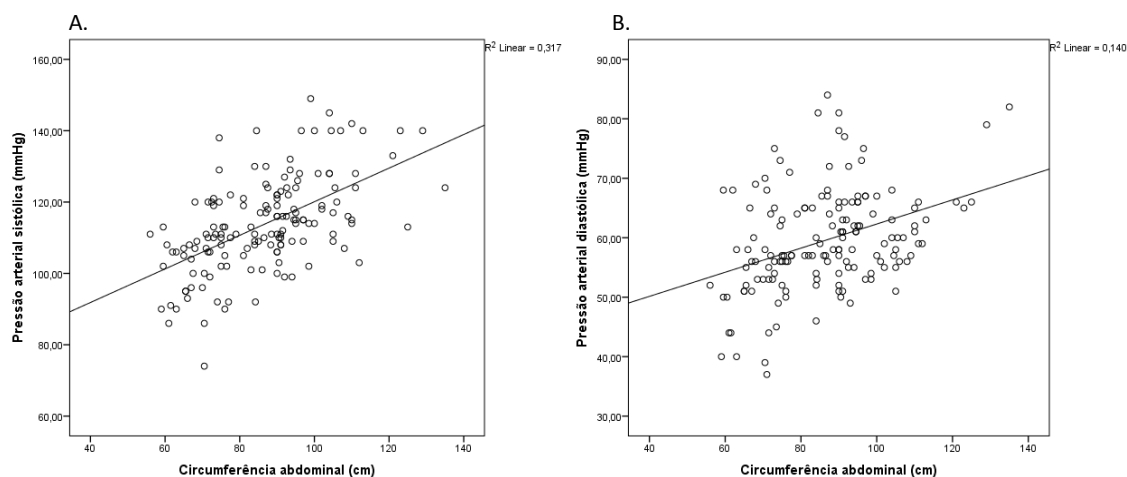


Figura 26- Correlação entre a circunferência abdominal (CAbd) e a pressão arterial sistólica [PA_s, (A)] e diastólica [PA_d, (B)]. Em relação aos marcadores da adiposidade, a circunferência abdominal teve uma correlação direta e significativa com a pressão arterial, particularmente com o componente sistólico.

R² linear, coeficiente de determinação.

PA_s: CAbd, (N=152); PA_d: CAbd, (N=152).

A sub-divisão em função do gênero mostrou que a circunferência abdominal foi o marcador que mais significativamente se relacionou com a pressão arterial sistólica ($r=0.531$; $p<0.001$) e diastólica ($r=0.422$, $p<0.001$), particularmente nos rapazes (Figura 27), implicando que o gênero masculino representa um grupo de maior risco cardiovascular.

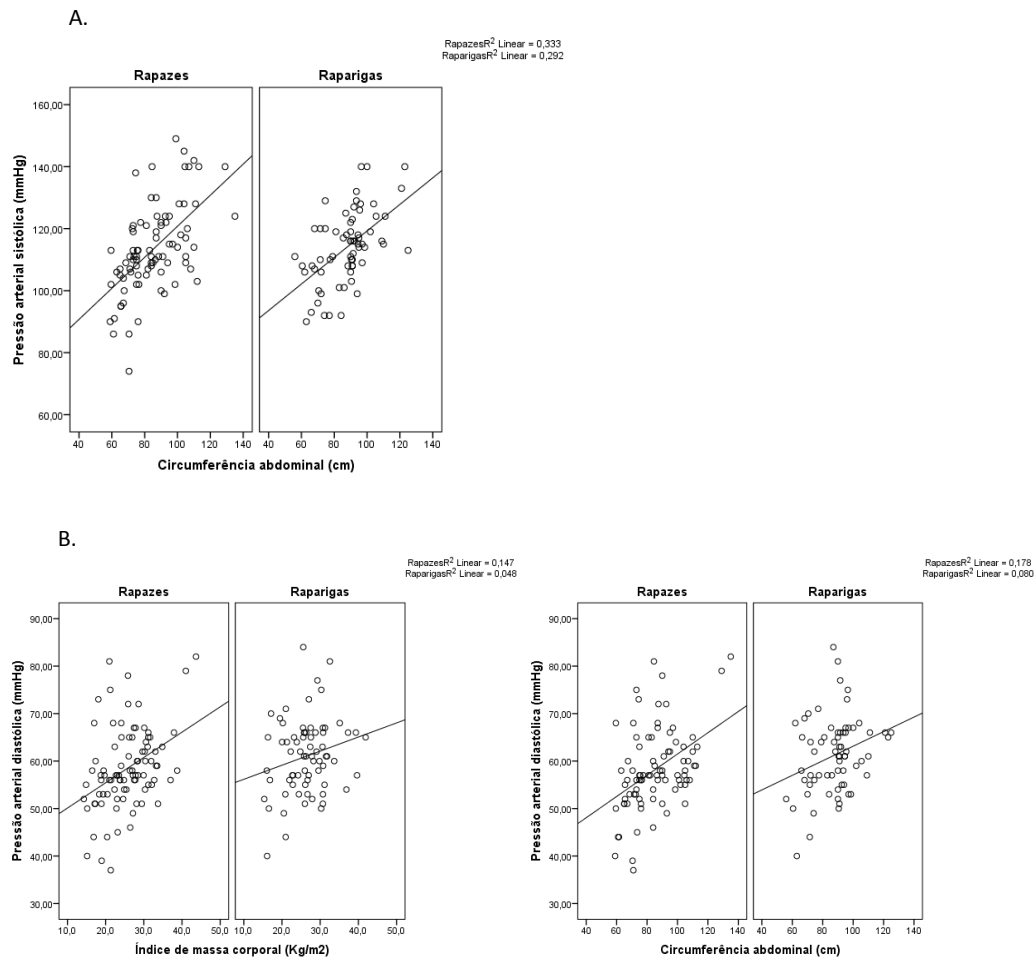


Figura 27- Correlações entre índice de massa corporal (IMC), a circunferência abdominal (CAbd) e a pressão arterial sistólica [PAS, (A)] e diastólica [PAD, (B)] em função do gênero. Em ambos os gêneros, os marcadores de adiposidade mostraram estar moderadamente correlacionados com a pressão arterial, particularmente nos rapazes, o que sugere, à semelhança dos achados neste estudo, que o sexo masculino é um grupo de maior risco cardiovascular, mesmo durante a infância.

R² linear, coeficiente de determinação.

PAS- IMC: rapazes, (N= 90); raparigas, (N=71); CAbd: rapazes, (N=85); raparigas, (N=67).

PAD- IMC: rapazes, (N=90); raparigas, (N=71); CAbd: rapazes, (N=85); raparigas, (N=67).

Todos os índices de adiposidade, após ajuste à idade, mantiveram a relação direta com a pré-hipertensão arterial sistólica (IMC: $p=0.001$; OR=1.13; CAbd: $p=0.001$; OR=1.05; %MG: $p=0.001$, OR=1.07) e com a hipertensão arterial sistólica (IMC: $p=0.011$; OR=1.16; CAbd: $p=0.003$; OR=1.08; %MG: $p=0.005$, OR=1.12).

A sub-divisão em função do gênero, ajustado à idade, mostrou que apenas nos rapazes, os índices de adiposidade mantiveram uma correlação significativa com a pré-HTA sistólica (IMC: $p=0.034$; OR=1.16; CAbd: $p=0.010$; OR=1.08; %MG: $p=0.022$, OR=1.08). Excetuando nas raparigas, em que o IMC se correlacionou com a HTA ($p=0.042$, OR=1.47), nos rapazes todos os índices de adiposidade se relacionaram com a HTA (IMC: $p=0.003$; OR=1.15; CAbd: $p=0.004$; OR=1.05; %MG: $p=0.002$, OR=1.09).

A hipertensão arterial diastólica não se correlacionou com qualquer dos índices de adiposidade, mesmo após ajuste à idade.

Estes resultados demonstram que, para além da idade contribuir significativamente para a pressão arterial sistólica, o gênero masculino também influencia a pré e hipertensão arterial sistólica.

1.2. Correlação entre os índices de adiposidade e os lípidos

Relativamente ao perfil lipídico, o colesterol total não apresentou correlações significativas com os marcadores de adiposidade, contrariamente à HDL-C, à LDL-C e aos TG, em que as correlações foram significativas.

Verificou-se que os índices de adiposidade correlacionaram-se moderadamente, no sentido inverso, com a HDL-C, particularmente a circunferência abdominal e o índice de massa corporal, como se pode observar na Tabela 8 e Figura 28.

Já os índices de adiposidade apresentaram correlações mais modestas, no sentido direto, em relação à LDL-C e aos TG (Tabela 8).

O ajuste à idade mostrou que as correlações entre os TG e o IMC ($r=0.228$, $p=0.004$), a %MG ($r=0.255$, $p=0.001$) e a CAbd ($r=0.220$, $p=0.007$), mantiveram-se significativas.

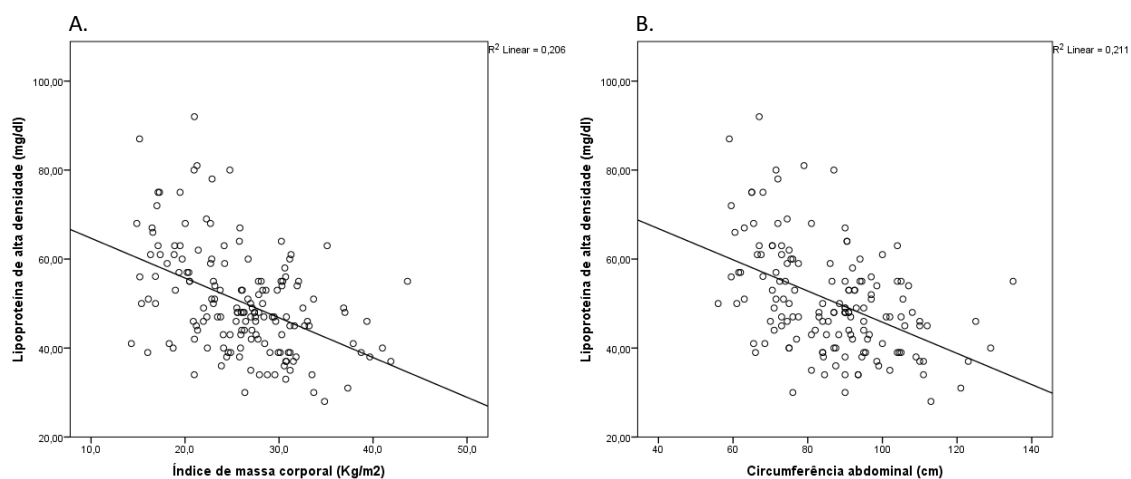


Figura 28- Correlação entre a lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e o índice de massa corporal [IMC, (A)] e a circunferência abdominal [CABd, (B)]. A HDL-C foi a lipoproteína que mais significativamente se relacionou com os marcadores de adiposidade, no sentido inverso, e em particular com o índice de massa corporal e a circunferência abdominal.

R² linear, coeficiente de determinação.

IMC, (N= 161); CABd, (N=152).

A sub-divisão em função do gênero mostrou que todos os marcadores de adiposidade correlacionaram-se de forma mais significativa com a HDL-C (Figura 29), no sentido inverso, e particularmente nos rapazes.

A HDL-C também apresentou uma relação significativa com a IR ($p < 0.001$, $OR = 0.859$) e com a HTA sistólica ($p = 0.007$, $OR = 0.868$) e, também, apenas nos rapazes. Já a LDL-C e os TG perderam significado estatístico no grupo das raparigas.

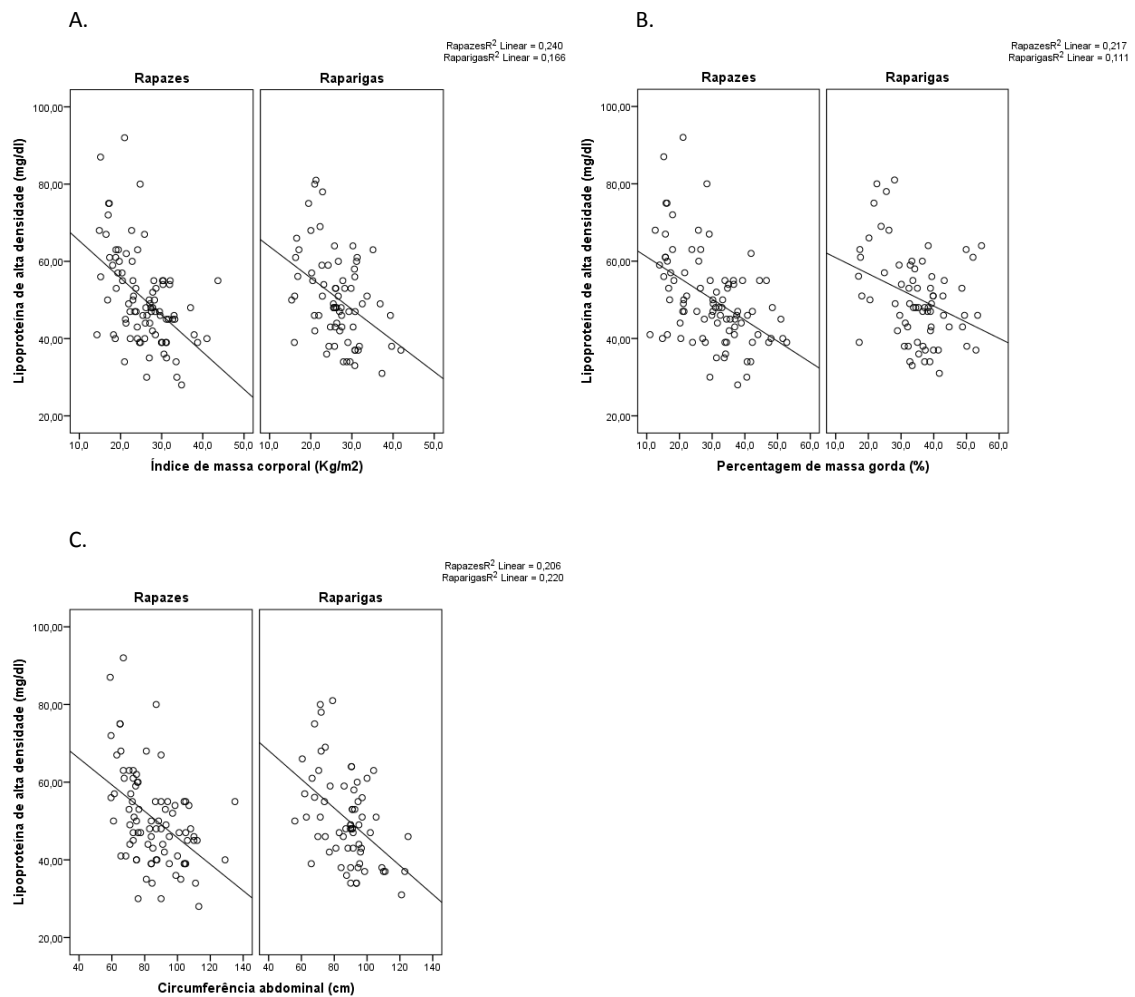


Figura 29- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC, (A)], a percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e a circunferência abdominal [CAbd, (C)] com a lipoproteína de alta densidade (HDL-C). A diminuição da HDL-C com o aumento da adiposidade contribui para o perfil pró-aterogénico, conforme se evidenciou neste estudo, particularmente no sexo masculino.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 90); %MG, (N=90); CAbd, (N=85)

Raparigas- IMC, (N= 71); %MG, (N=71); CAbd, (N=67).

1.3. Correlação entre os índices de adiposidade e as lipoproteínas plasmáticas

Das correlações das lipoproteínas plasmáticas com os marcadores de adiposidade destaca-se o facto de não serem observadas correlações significativas no que respeita à Lp(a). Os marcadores de adiposidade relacionaram-se, no sentido inverso e direto, respetivamente, com a ApoA-I e a ApoB, mas mais significativamente, no sentido direto, com o rácio ApoB/ApoA-I considerado, nos adultos, um fator de risco cardiovascular (Tabela 8).

A sub-divisão em função do género mostrou que, nos rapazes, das lipoproteínas plasmáticas, aquela que mais se correlacionou com os marcadores de adiposidade foi a ApoA-I, no sentido inverso. Nas raparigas, nenhuma das variáveis analisadas teve significado estatístico. À semelhança da avaliação global, nesta análise, o rácio ApoB/ApoA-I apresentou a correlação mais significativa com os marcadores de adiposidade, moderadamente no grupo de rapazes, como se pode observar na Figura 30.

Face a esta relação, correlacionámos o rácio ApoB/ApoA-I com a insulino-resistência (HOMA-IR >3) e a hipertensão arterial sistólica. Verificámos uma relação significativa, só no grupo dos rapazes, com a insulino-resistência ($p=0.001$), e com a hipertensão arterial sistólica ($p=0.038$).

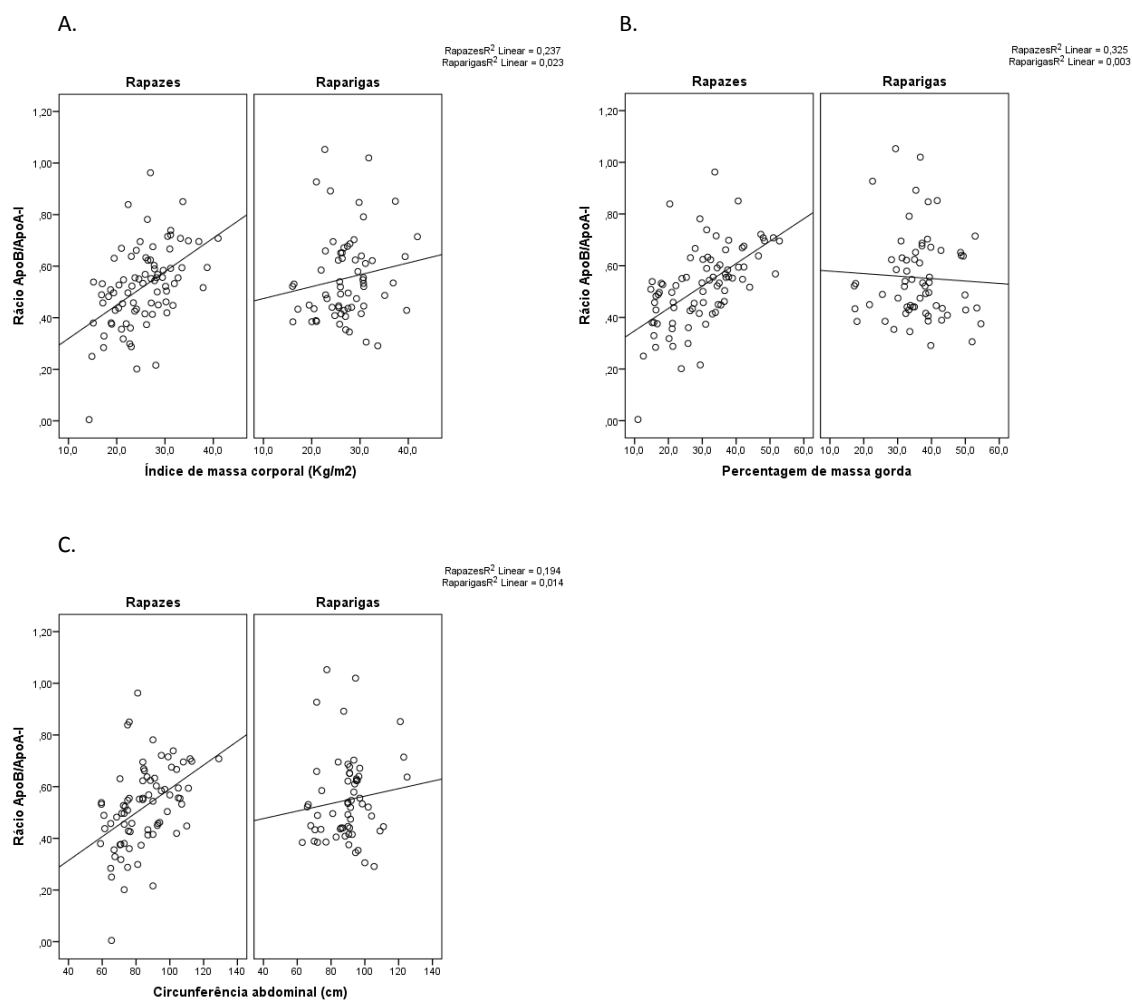


Figura 30- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC;(A)], a percentagem de massa gorda[%MG;(B)] e a circunferência abdominal [CAbd;(C)] com o rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I (rácio ApoB/ApoA-I). Apenas nos rapazes se evidenciaram correlações significativas com o rácio ApoB/ApoA-I. Nos adultos, o rácio ApoB/ApoA-I é considerado um fator de risco cardiovascular e preditivo de eventos cardiovasculares adversos.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 83); %MG, (N=83); CAbd, (N=78).

Raparigas- IMC, (N= 67); %MG, (N=67); CAbd, (N=60).

1.4. Correlação entre os índices de adiposidade e o índice de insulino- resistência

Como expresso na Tabela 8, os marcadores de adiposidade correlacionaram-se diretamente e moderadamente com o HOMA-IR, sendo a correlação entre o HOMA-IR e o IMC a mais significativa (Figura 31).

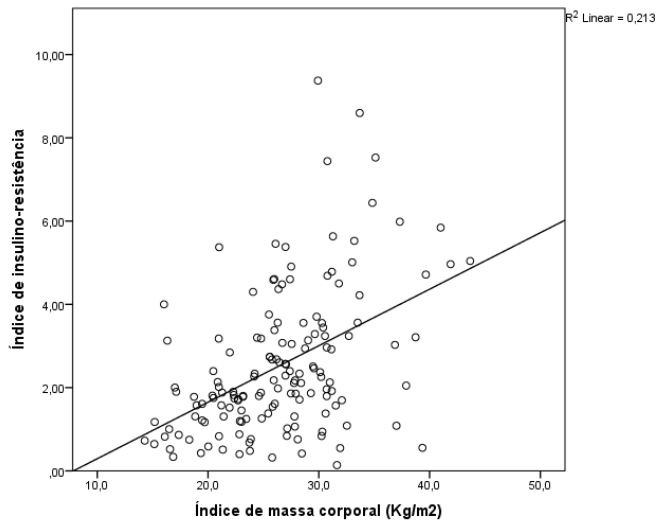


Figura 31- Correlação entre o índice de massa corporal (IMC) e o índice de insulino-resistência (HOMA-IR). O aumento do IMC condiciona um aumento do HOMA-IR, implicitamente associando-se a uma maior prevalência de insulino-resistência nas crianças obesas. HOMA-IR, *homeostasis model assessment-insulin resistance*. R^2 linear, coeficiente de determinação. HOMA-IR, (N=151).

Considerando a sub-divisão por gênero, as correlações mantiveram-se, no mesmo sentido, mas mais significativamente nos rapazes (Figura 32).

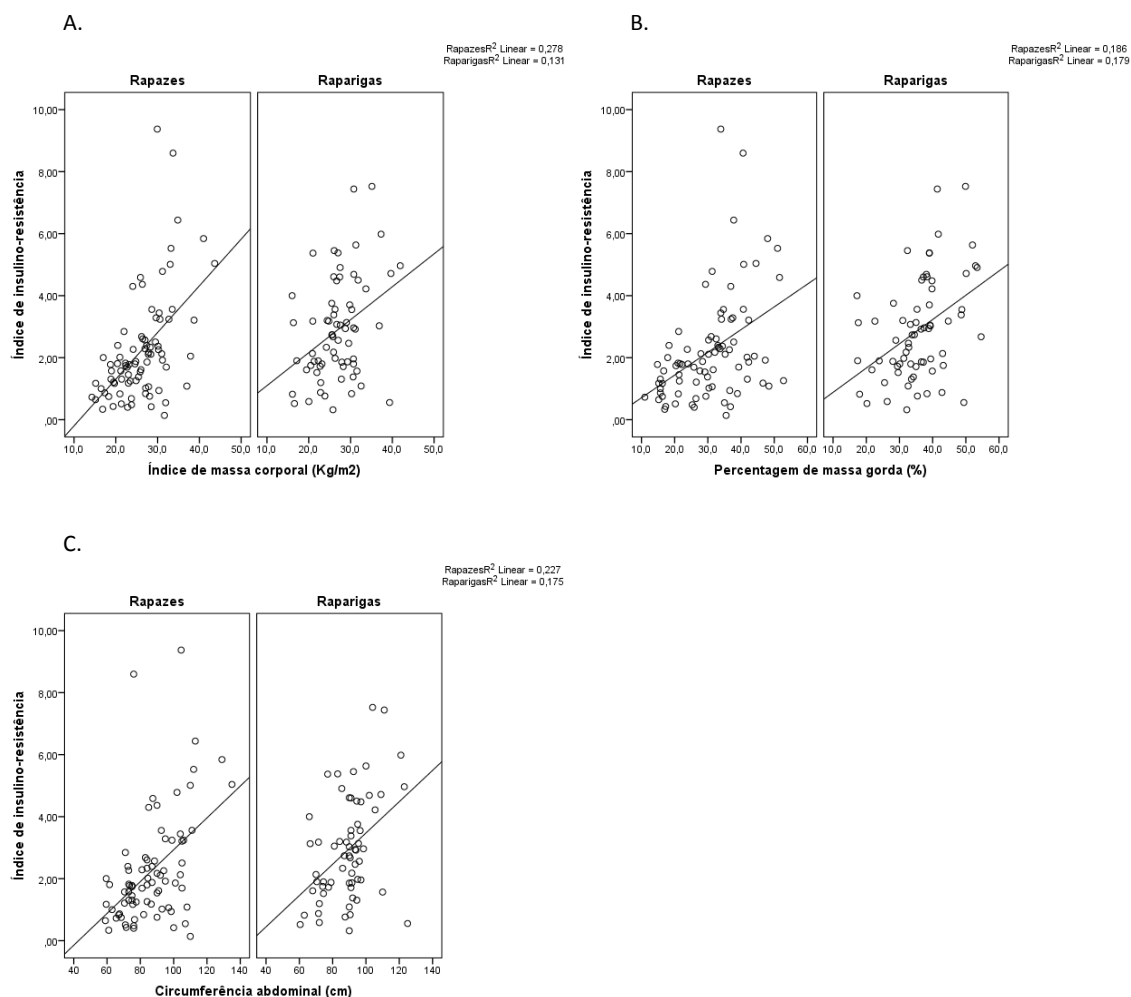


Figura 32- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC; (A)], a porcentagem de massa gorda [%MG; (B)] e a circunferência abdominal [CAbd; (C)] com o índice de insulino-resistência. Apesar dos marcadores de adiposidade se correlacionarem diretamente com o índice de insulino-resistência em ambos os gêneros, esta correlação foi mais forte no grupo de rapazes.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 83); %MG, (N=83); CAbd, (N=79)

Raparigas- IMC, (N= 68); %MG, (N=68); CAbd, (N=64).

Todos os índices de adiposidade relacionaram-se significativamente ($p < 0.001$) e diretamente com a insulino-resistência ($HOMA-IR > 3$). A sub-análise, em função do gênero, mostrou que em ambos os gêneros manteve-se esta tendência mais expressamente no grupo de rapazes (rapazes: IMC, CAbd e %MG, $p < 0.001$; raparigas: IMC, $p = 0.042$; %MG, $p = 0.013$; CAbd, $p = 0.043$).

Esta análise permite afirmar que a adiposidade correlaciona-se diretamente e significativamente com a insulino-resistência e que os rapazes representam um maior grupo de risco.

1.5. Correlação entre os índices de adiposidade e as adipocinas

Como se pode observar na Tabela 8, a leptina correlacionou-se diretamente e moderadamente com o índice de massa corporal, a percentagem de massa gorda (Figura 33), e a circunferência abdominal. A adiponectina também apresentou uma relação significativa, mas no sentido inverso, relativamente aos mesmos parâmetros, mas mais evidente com a circunferência abdominal (Figura 34).

Após ajuste à idade, os índices de adiposidade mantiveram uma correlação significativa com a adiponectina (IMC: $r=-0.373$, $p<0.001$; %MG: $r=-0.355$, $p<0.001$; CAAbd: $r=-0.402$, $p<0.001$) e a leptina (IMC: $r=0.655$, $p<0.001$; %MG: $r=0.591$, $p<0.001$; CAAbd: $r=0.629$, $p<0.001$).

Estas alterações favorecem um ambiente pró-aterogénico, contribuindo assim, para a disfunção endotelial.

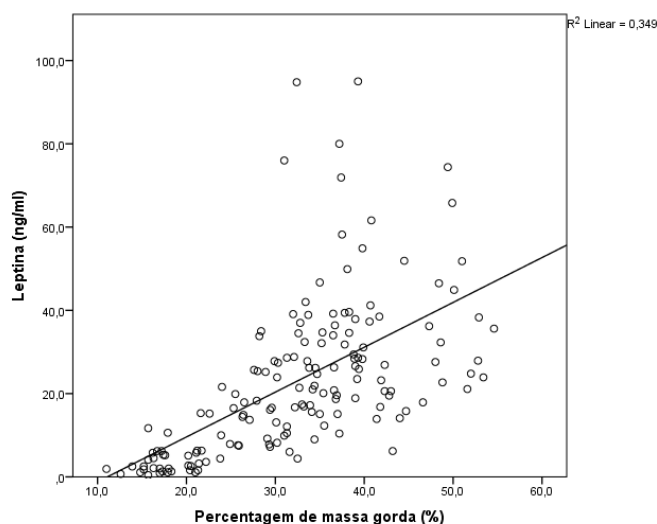


Figura 33- Correlação entre a percentagem de massa gorda (%MG) e a leptina. A leptina está diretamente correlacionada com a percentagem de massa gorda e, face às suas propriedades pró-aterogénicas, contribui para a disfunção endotelial.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

Leptina, (N=158).

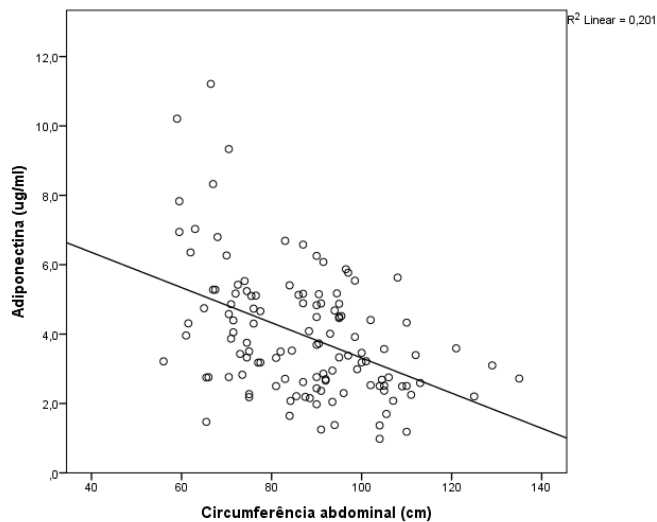


Figura 34- Correlação entre a circunferência abdominal (CAbd) e a adiponectina. A adiponectina é uma adipocina com propriedades anti-aterogénicas que se correlacionou, no sentido inverso, com a circunferência abdominal, relação que se evidenciou neste estudo.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

Adiponectina, (N=158).

Na avaliação global, a subdivisão dos grupos por género mostrou que as correlações se mantiveram significativas quer em relação à leptina quer à adiponectina, no sentido direto e inverso, respetivamente, e particularmente no grupo de rapazes, conforme se pode observar nas Figuras 35 e 36. Nesta análise, e após ajuste à idade, os índices de adiposidade mantiveram uma correlação significativa com a adiponectina (IMC: $r=-0.425$, $p<0.001$; %MG: $r=-0.355$, $p<0.001$; CAbd: $r= -0.402$, $p<0.001$) e a leptina (IMC: $r=0.655$, $p<0.001$; %MG: $r=0.591$, $p<0.001$; CAbd: $r= 0.629$, $p<0.001$), resultados que sugerem uma predisposição pró-aterogénica no género masculino.

A mesma observação também se evidenciou ao analisarmos o grupo de crianças obesas, em função do género, relativamente à leptina (rapazes- IMC: $r=0.418$; $p=0.001$; %MG: $r=0.495$; $p<0.001$; CAbd: $r=0.419$; $p<0.001$; raparigas- IMC: $r=0.443$; $p<0.001$; %MG $r=0.094$; $p=0.481$; CAbd: $r=0.347$; $p=0.009$).

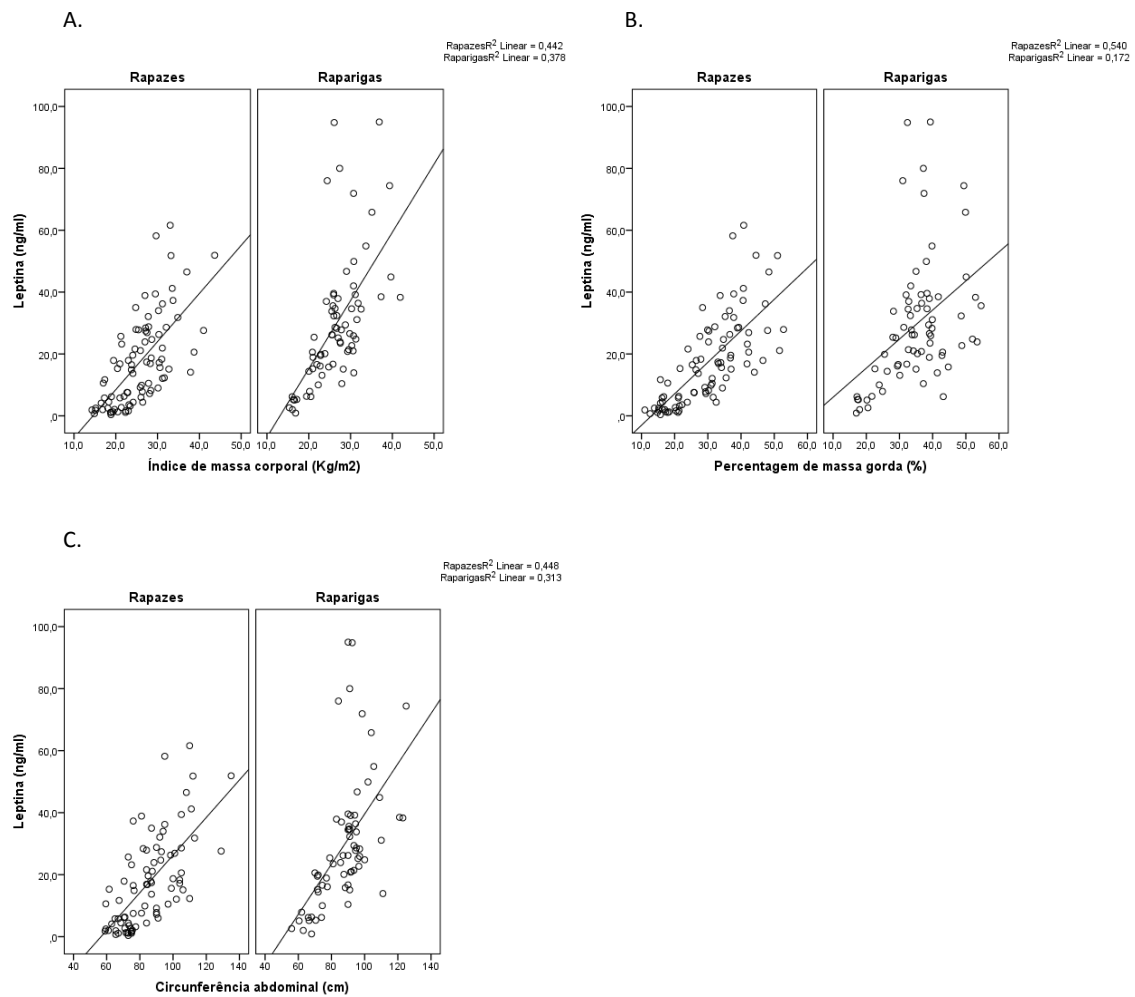


Figura 35- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC;(A)], a percentagem de massa gorda[%MG;(B)] e a circunferência abdominal [CAbd;(C)] com a leptina. Evidenciou-se uma relação direta entre os marcadores de adiposidade e a leptina, mais pronunciada nos rapazes, sugerindo que o sexo masculino predispõe para um aumento do risco cardiovascular mesmo nas idades mais precoces.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 87); %MG, (N=87); CAbd, (N=82).

Raparigas: IMC, (N= 71); %MG, (N=71); CAbd, (N=67).

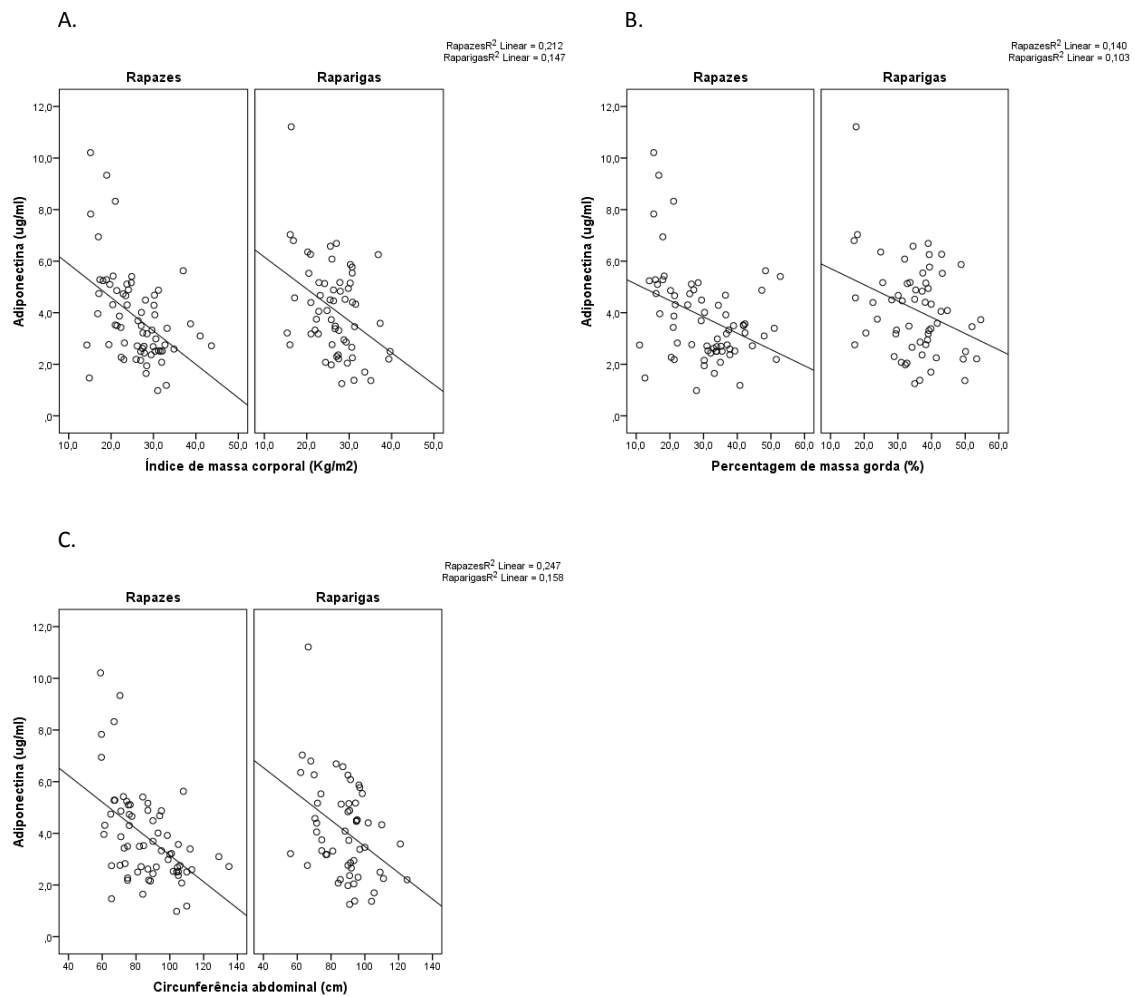


Figura 36- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC; (A)], a percentagem de massa gorda [%MG; (B)] e circunferência abdominal [CAbd; (C)] com a adiponectina. Evidenciou-se uma relação inversa entre os marcadores de adiposidade e a adiponectina, mais evidente nos rapazes, sugerindo que o género masculino predispõe para um aumento do risco cardiovascular mesmo nas idades mais precoces.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 87); %MG, (N=87); CAbd, (N=82).

Raparigas- IMC, (N= 71); %MG, (N=71); CAbd, (N=67).

1.6. Correlação entre os índices de adiposidade e os marcadores inflamatórios

Evidenciou-se (Tabela 8) uma correlação direta entre os parâmetros de adiposidade e a PCRus, particularmente no que respeita à percentagem de massa gorda (Figura 37), permitindo estabelecer a relação entre a adiposidade e o processo inflamatório que caracteriza a obesidade.

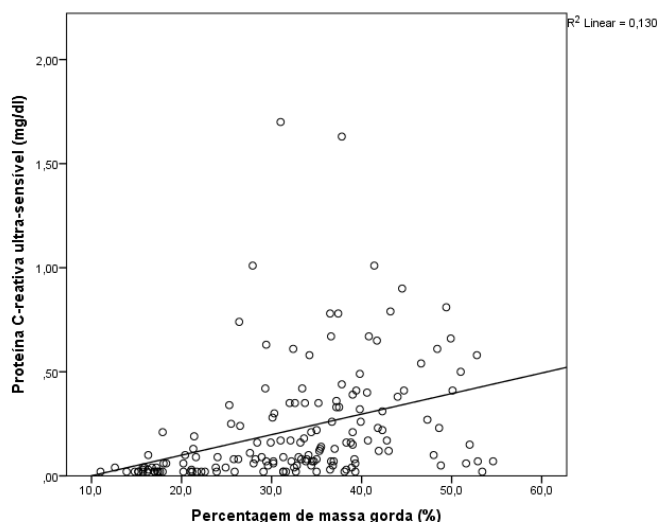


Figura 37- Correlação entre a percentagem de massa gorda com a proteína C-ultra-sensível (PCRus). A correlação, no sentido direto, entre a PCRus e a percentagem de massa gorda, observada neste estudo, sugere uma relação entre a adiposidade e o processo inflamatório que caracteriza a obesidade.

R² linear, coeficiente de determinação.

PCRus, (N=158).

A MCP-1 só se relacionou, diretamente, com o IMC (Tabela 8), tendência que não se manteve após ajuste à idade por regressão linear.

Na avaliação global, a sub-divisão em função do género mostrou que os índices de adiposidade mantiveram correlações diretas com a PCRus (Figura 38), quer no grupo de rapazes (IMC, $\rho=0.546$; $p<0.001$; %MG, $\rho=0.603$; $p<0.001$; CAbd, $\rho=0.520$; $p<0.001$), quer no grupo, das raparigas (IMC, $\rho=0.438$; $p<0.001$; %MG, $\rho=0.416$; $p<0.001$; CAbd, $\rho=0.455$; $p<0.001$).

As alterações observadas, que se evidenciam muito precocemente, contribuem para o processo fisiopatológico da obesidade, particularmente a PCRus.

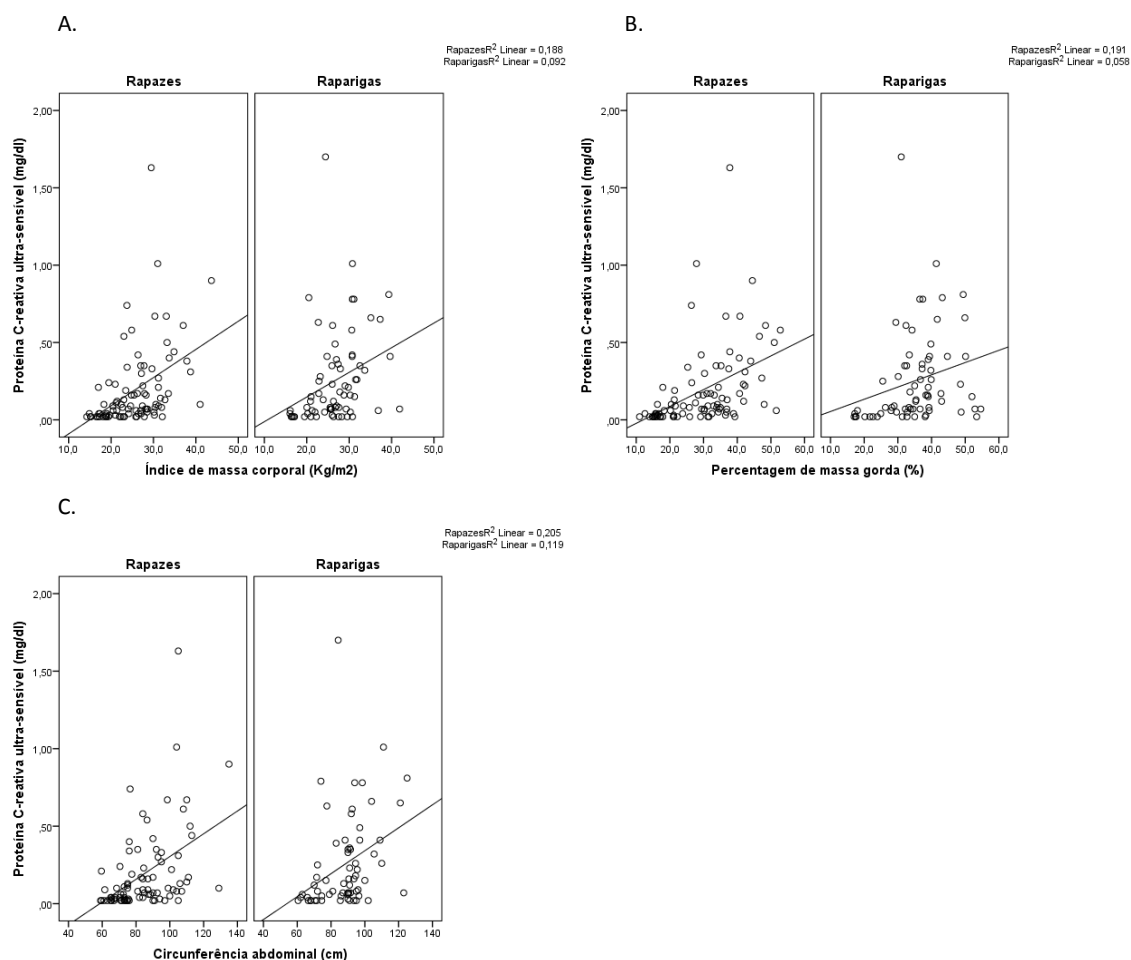


Figura 38- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC; (A)], a percentagem de massa gorda [%MG; (B)] e a circunferência abdominal [CAbd;(C)] com a proteína C-reativa ultra-sensível (PCRus). Salientou-se um perfil pró-inflamatório nos rapazes, relativamente às raparigas, que se correlacionou diretamente com os marcadores de adiposidade.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 88); %MG, (N=88); CAbd, (N=83).

Raparigas- IMC, (N= 70); %MG, (N=70); CAbd, (N=66).

1.7. Correlação entre os índices de adiposidade e a E-selectina

Excetuando a circunferência abdominal, os restantes marcadores de adiposidade correlacionaram-se diretamente, mas fracamente, com a E-selectina (Tabela 8).

A sub-divisão por género mostrou que a correlação mais forte foi com a percentagem de massa gorda ($r=0.476, p=0.001$) no grupo dos rapazes, (Figura 39) e no grupo das raparigas com o IMC ($p=0.377, p=0.008$) e a CAbd ($p=0.331, p=0.023$), ambos no sentido direto.

Estes resultados sugerem uma correlação entre a adiposidade e a E-selectina, e implicitamente com a ativação do endotélio.

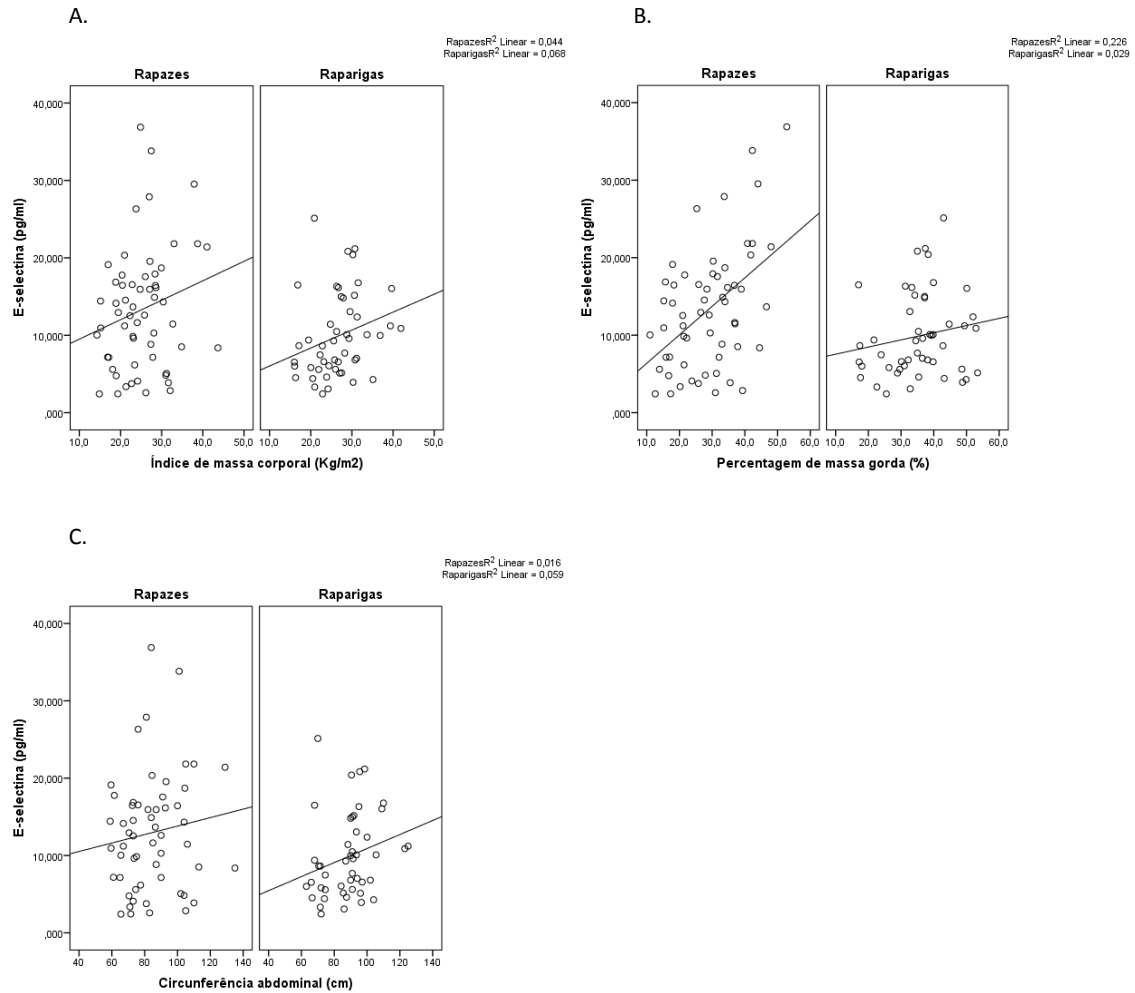


Figura 39- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC; (A)], a percentagem de massa gorda [%MG; (B)] e a circunferência abdominal [CABd;(C)] com a E-selectina. As correlações entre os marcadores de adiposidade e a E-selectina sugerem ativação endotelial em idades precoces em grupos de risco.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 58); %MG, (N=58); CABd, (N=56).

Raparigas: IMC, (N= 49); %MG, (N=49); CABd, (N=47).

1.8. Correlação entre os índices de adiposidade com a dimetilarginina assimétrica e o número de células progenitoras endoteliais circulantes

Observou-se uma correlação fraca, no sentido direto, entre os índices de adiposidade com a ADMA e as EPCs (Tabela 8), mesmo ajustando à idade.

A sub-divisão por género mostrou que os marcadores de adiposidade se correlacionaram com a ADMA, particularmente no grupo das raparigas e quando ajustados á idade por correlação parcial (IMC- $r=0.415$; $p=0.003$; %MG- $r=0.468$; $p=0.001$; CA_{bd}- $r=0.449$; $p=0.001$, Figura 40), padrão possivelmente influenciado pela superior percentagem de massa gorda nas raparigas (%MG- rapazes 29.9% vs 35.1% nas raparigas; $p=0.001$). Estas alterações sugerem que, em grupos de risco, a biodisponibilidade do óxido nítrico pode estar, potencialmente, comprometida.

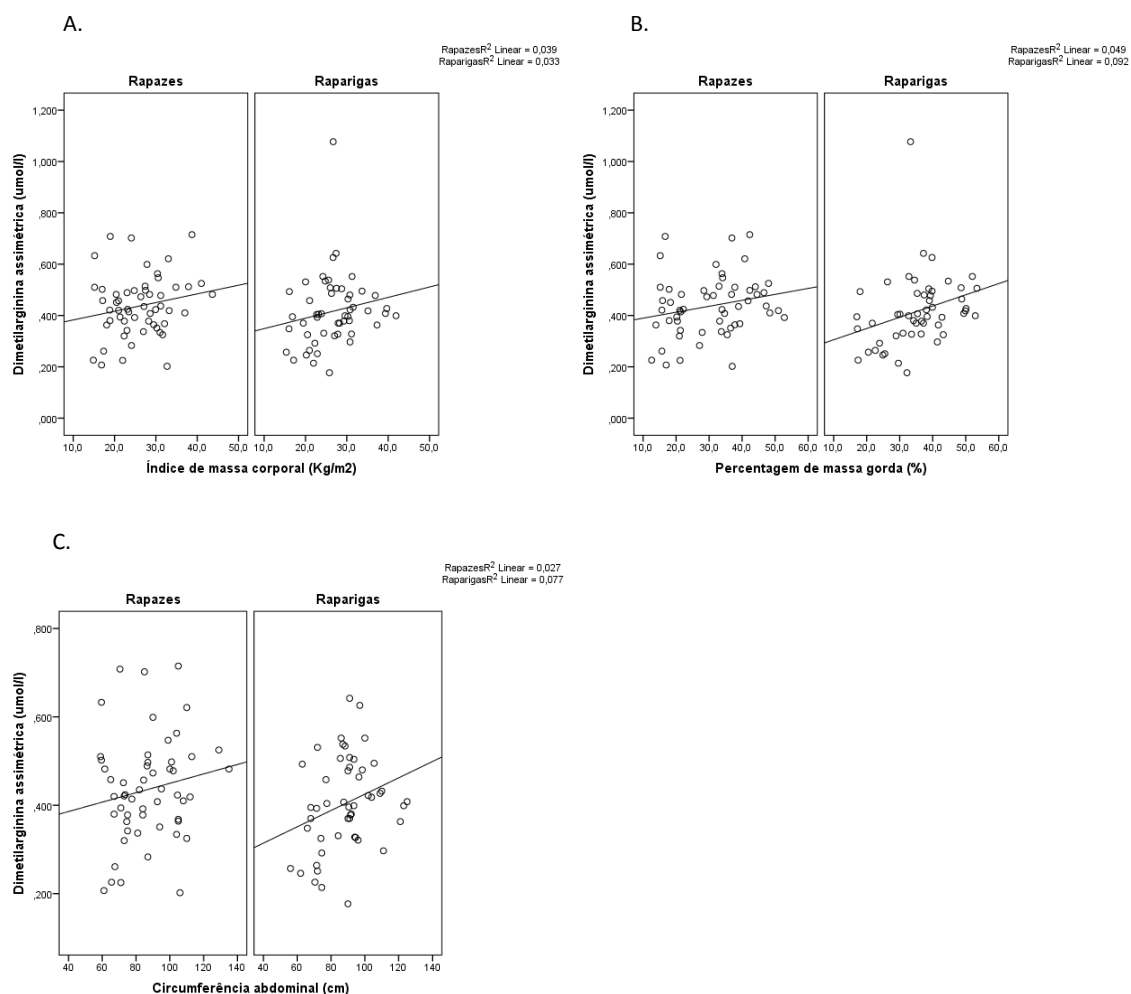


Figura 40- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC,(A)], a percentagem de massa gorda [%MG,(B)] e a circunferência abdominal [CAbd,(C)] com a dimetilarginina assimétrica (ADMA). A percentagem de massa gorda foi o marcador de adiposidade que melhor se correlacionou com a ADMA sugerindo que, na infância, em grupos de risco, existem mecanismos que comprometem a biodisponibilidade do óxido nítrico.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC,(N= 55); %MG, (N=55); CAbd, (N=54).

Raparigas- IMC, (N= 52); %MG, (N=52); CAbd, (N=50).

Em relação às EPCs, a sub-divisão por género mostrou que apenas no grupo de rapazes (Figura 41), os índices de adiposidade se correlacionaram, no sentido direto, com as EPCs (IMC- $p=0.289$, $p=0.015$; %MG- $p=0.356$, $p=0.002$; CAbd- $p=0.295$; $p=0.015$), sugerindo, em grupos de risco, uma resposta reparadora do endotélio durante a infância, particularmente no género masculino.

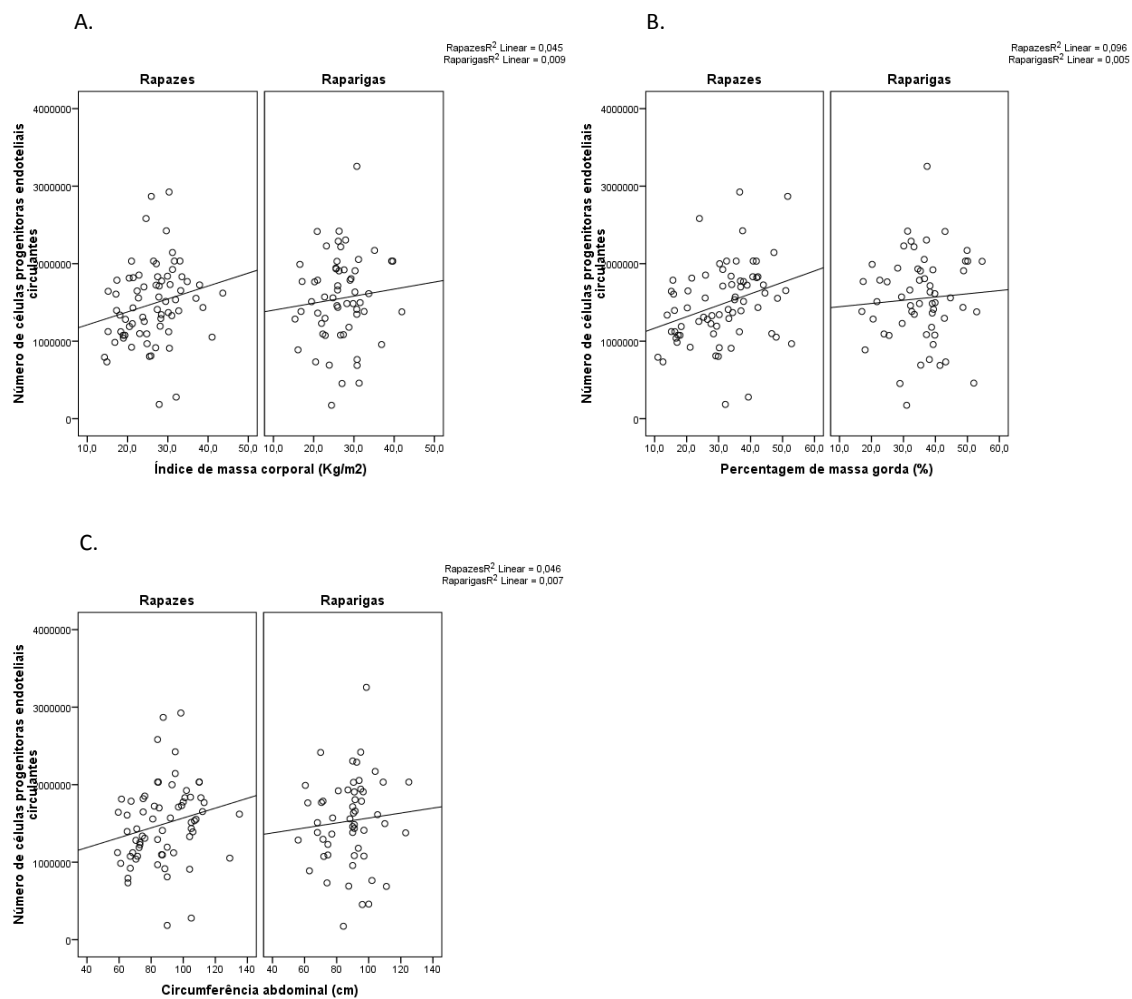


Figura 41- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC,(A)], a percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e a circunferência abdominal [CAbd, (C)] com o número de células progenitoras endoteliais circulantes (EPCs). Evidenciou-se um aumento das EPCs nos rapazes implicando uma ativação precoce dos mecanismos reparadores endoteliais no contexto da obesidade infantil.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes: IMC, (N= 71); %MG, (N=71); CAbd, (N=67).

Raparigas: IMC, (N= 58); %MG, (N=58); CAbd, (N=54).

1.9. Correlação entre os índices de adiposidade e os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo

Como se pode observar na Tabela 8, o índice de massa corporal e a circunferência abdominal correlacionaram-se direta e moderadamente com os diâmetros ecocardiográficos avaliados, nomeadamente o DDVE (Figura 42) e o DSVE.

Quando ajustadas à idade as correlações mantiveram-se significativas, salvo o diâmetro do SIV. Nesta análise, o IMC manteve-se correlacionado com o DDVE ($r=0.365$, $p<0.001$), o DSVE ($r=0.364$, $p<0.001$) e a PPVE ($r=0.271$, $p=0.001$); a %MG manteve-se correlacionada com o DDVE ($r=0.163$, $p=0.003$), o DSVE ($r=0.199$, $p=0.012$) e a PPVE ($r=0.241$, $p=0.002$); a CA_{bd} manteve a correlação com o DDVE ($r=0.314$, $p<0.001$), o DSVE ($r=0.337$, $p<0.001$) e a PPVE ($r=0.239$, $p=0.003$).

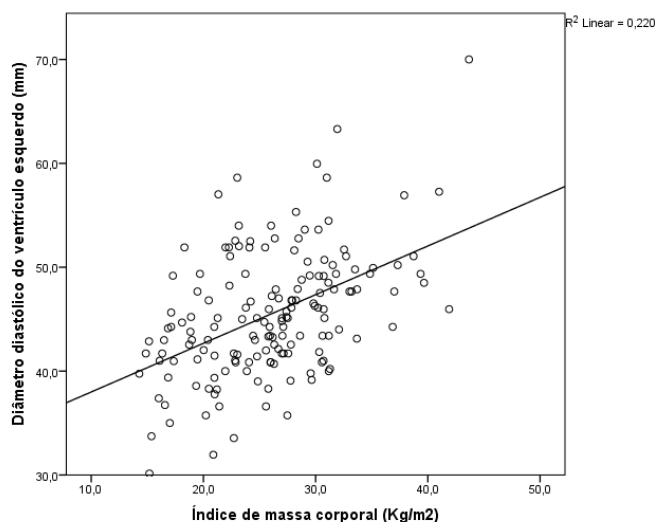


Figura 42- Correlação entre o índice de massa corporal e o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE). O índice de massa corporal é um importante preditor do diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE), que está aumentado na obesidade devido à sobrecarga de volume subjacente. R² linear, coeficiente de determinação. DDVE, (N= 161).

A sub-divisão por género mostrou que os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo mantiveram as correlações no sentido direto, mais evidentes no grupo das raparigas (Figura 43). Dos marcadores da adiposidade, a percentagem de massa gorda, foi o parâmetro que menos se correlacionou com os referidos diâmetros.

Nos rapazes, o IMC correlacionou-se diretamente com o DDVE ($r=0.430$, $p<0.001$), o DSVE ($r=0.421$; $p<0.001$) e a PPVE ($r=0.235$, $p=0.032$). A %MG correlacionou-se com o DDVE ($r=0.250$, $p=0.022$), o DSVE ($r=0.237$; $p=0.030$) e a PPVE ($r=0.248$, $p=0.023$). A CA_{abd} correlacionou-se com o DDVE ($r=0.341$, $p=0.001$) e o DSVE ($r=0.342$; $p=0.001$).

Nas raparigas, o IMC correlacionou-se diretamente com o DDVE ($r=0.349$, $p=0.004$), o DSVE ($r=0.451$; $p=0.004$) e a PPVE ($r=0.387$, $p=0.001$). A %MG correlacionou-se com o DSVE ($r=0.265$; $p=0.031$) e a PPVE ($r=0.328$, $p=0.007$). A CA_{abd} correlacionou-se com o DDVE ($r=0.361$, $p=0.003$), o DSVE ($r=0.386$; $p=0.001$) e a PPVE ($r=0.361$, $p=0.003$).

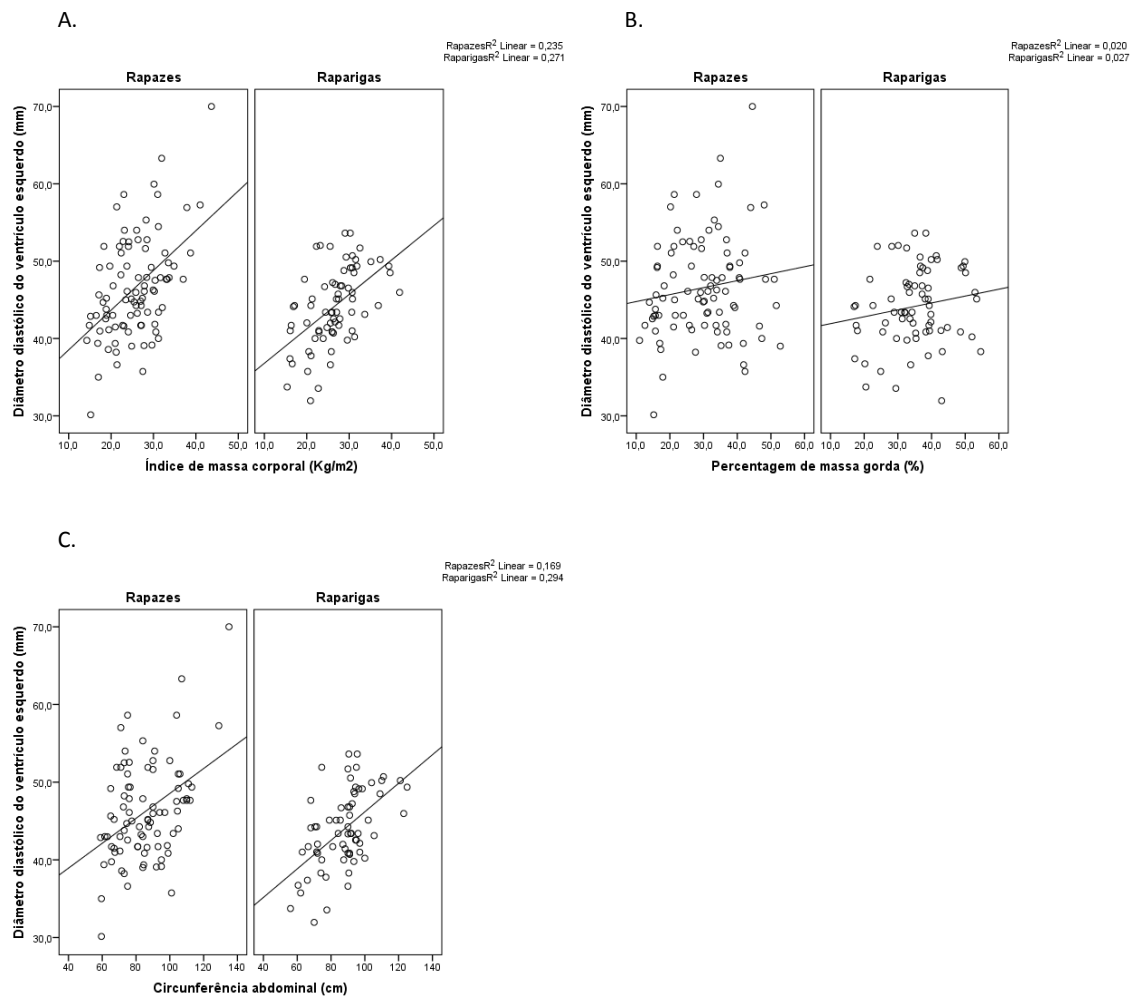


Figura 43- Correlações entre o índice de massa corporal [IMC, (A)], a percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e a circunferência abdominal [CAbd, (C)] com o diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE).

R² linear, coeficiente de determinação.

Rapazes- IMC, (N= 90); %MG, (N=90); CAbd, (N=85).

Raparigas- IMC, (N= 71); %MG, (N=71); CAbd, (N=67).

1.10. Correlação entre os índices de adiposidade e a geometria ventricular

A massa ventricular esquerda correlacionou-se diretamente com os marcadores de adiposidade, moderadamente com o índice de massa corporal (Figura 44-A) e a circunferência abdominal e mais fracamente com a percentagem de massa gorda (Tabela 8). As correlações com o IMVE, igualmente um fator de risco cardiovascular no adulto, foram também no sentido direto, mas mais fracas (Tabela 8, Figura 44-B).

Não se observaram correlações com a espessura relativa da parede do ventrículo esquerdo.

O ajuste à idade e gênero mostrou que o IMC ($r=0.426$, $p<0.001$), a %MG ($r=0.345$, $p<0.001$) e a CAbd ($r=0.343$, $p<0.001$), mantiveram-se correlacionados diretamente com a massa ventricular esquerda.

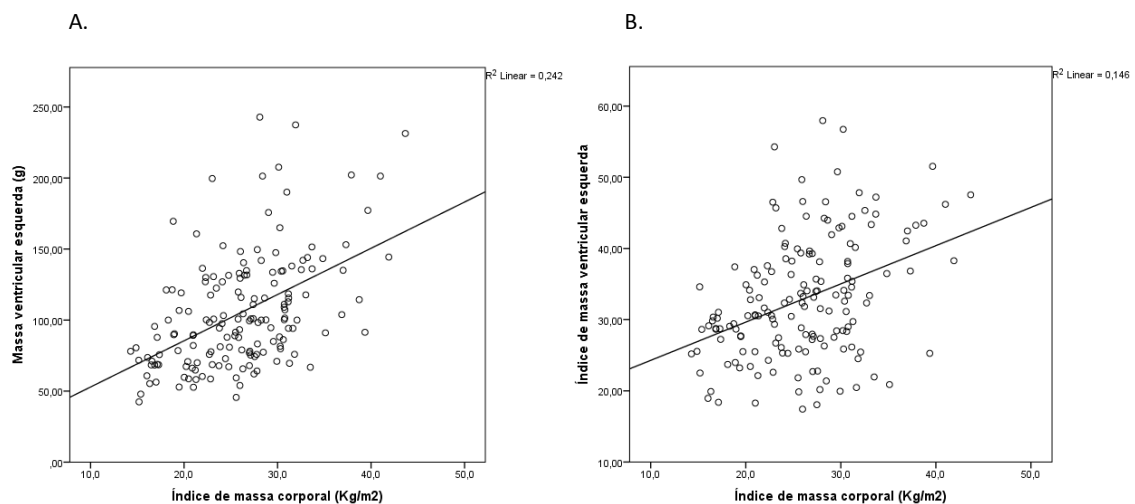


Figura 44- Correlações entre a massa ventricular esquerda [MVE,(A)] e o índice de massa ventricular esquerda [IMVE, (B)] com o índice de massa corporal (IMC). A MVE e o IMVE correlacionaram-se diretamente com o IMC, ambos considerados fatores de risco cardiovascular no adulto.

R² linear, coeficiente de determinação.

MVE, (N=161); IMVE, (N=161).

Considerando a sub-divisão em função do gênero os índices de adiposidade, e particularmente o índice de massa corporal, correlacionaram-se diretamente e de forma mais significativa com a MVE nas raparigas (Figura 45-A) e com o IMVE nos rapazes (Figura 45-B).

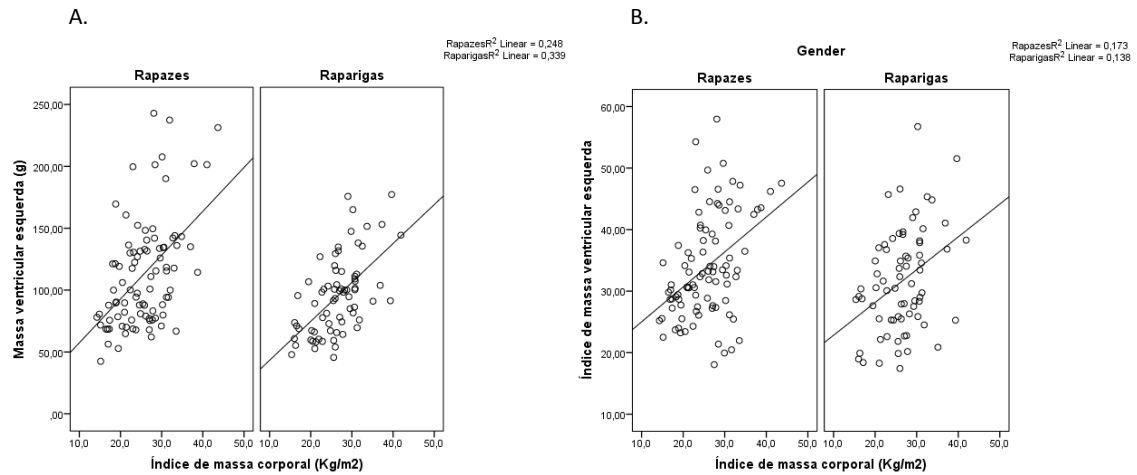


Figura 45- Correlações entre o índice massa corporal com a massa ventricular esquerda [MVE, (A)] e o índice de massa ventricular esquerda [IMVE,(B)] em função do gênero. O IMVE apresentou uma correlação superior no grupo de rapazes e, sendo um marcador de risco cardiovascular, implica que o gênero masculino possa ser um fator de risco.

R² linear, coeficiente de determinação.

MVE- rapazes, (N=90); raparigas, (N=71).

IMVE- rapazes, (N=90); raparigas, (N=71).

1.11. Correlação entre os índices de adiposidade e a espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum

Os marcadores de adiposidade correlacionaram-se, no sentido direto, com a espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum, sendo a correlação mais significativa com a circunferência abdominal (Tabela 8 e Figura 46).

Ajustada à idade, a cIMT manteve-se diretamente correlacionada com o IMC ($r=0.254$, $p=0.002$), a %MG ($r=0.222$, $p=0.006$) e a CAbd ($r=0.265$, $p=0.001$).

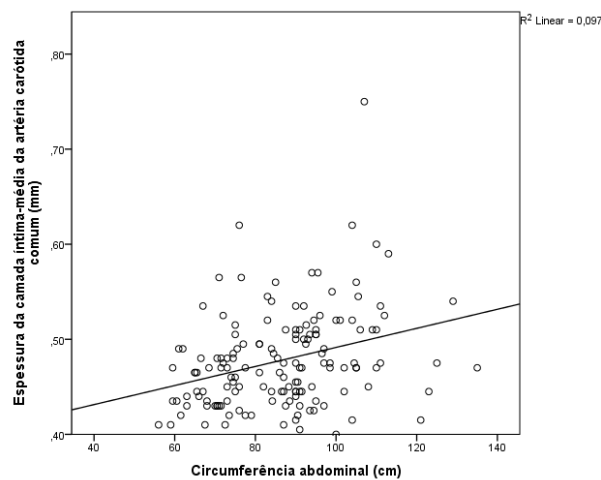


Figura 46- Correlação entre a espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum (cIMT) e a circunferência abdominal. Dos marcadores da adiposidade, a circunferência abdominal foi o marcador que mais se correlacionou, no sentido direto, com a cIMT.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

cIMT, (N=151).

Na sub-divisão em função do género, e após ajuste à idade, o IMC ($r=0.295, p=0.007$), a %MG ($r=0.301, p=0.006$) e a CAbd ($r=0.334, p=0.002$) mantiveram uma relação significativa com a cIMT, mas apenas no grupo dos rapazes (Figura 47), implicando que no género masculino, as alterações morfológicas dos vasos, sejam mais precoces.

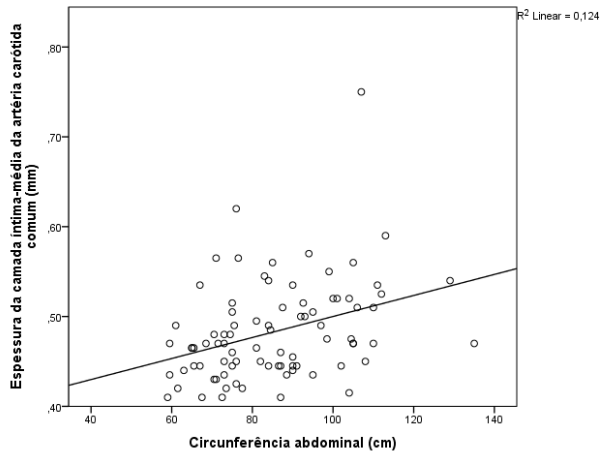


Figura 47- Correlação entre a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum (cIMT) e a circunferência abdominal no grupo de rapazes. Esta relação apenas foi significativa no grupo dos rapazes, sugerindo que na obesidade infantil, as alterações morfológicas dos vasos já se evidenciam neste grupo.

R² linear, coeficiente de determinação.

cIMT: rapazes, (N=84).

2. ADIPOCINAS

Como se pode observar na Tabela 9, e para além das correlações com os marcadores de adiposidade anteriormente abordados, a leptina correlacionou-se, no sentido direto ou no sentido inverso, com os restantes parâmetros avaliados neste estudo, exceto a Lp(a), a MCP-1, a E-selectina, o DDVE, o SIV, a PPVE e a MVE. O mesmo foi observado com a adiponectina, excetuando a LDL-C, a ApoB, o rácio ApoB/ApoA-I, a Lp(a), a MCP-1, a E-selectina, a ADMA, as EPCs, o SIV, a PPVE e o IMVE.

Serão, de seguida, identificadas e graficamente representadas as correlações mais significativas, incluindo as observadas em função do género.

Tabela 9- Correlações entre as adipocinas e os parâmetros estudados

	N	Leptina (ng/ml)	N	Adiponectina(µg/ml)
IMC (Kg/m ²)	158	0.691***§	127	-0.419***‡
%MG	158	0.711***§	127	-0.317***‡
CAbd (cm)	149	0.693***§	122	-0.448***‡
PAs (mmHg)	161	0.257***§	127	-0.348***§
PAd (mmHg)	161	0.203*§	127	-0.195*§
CT (mg/ml)	158	0.193*§	127	0.201*‡
HDL-C (mg/dl)	158	-0.283***§	127	0.389*** ‡
LDL-C (mg/dl)	158	0.336***§	127	-0.004
TG (mg/dl)	158	0.238**§	127	-0.224* ‡
ApoA-I (g/l)	81	-0.095*§	62	0.319*** ‡
ApoB (g/l)	81	0.374***§	62	0.003
ApoB/ApoA-I	81	0.374***§	62	-0.122
Lp(a) (mg/dl)	145	0.093	116	-0.075
HOMA-IR	149	0.485***§	119	-0.265** ‡
PCRus (mg/dl)	156	0.568***§	124	-0.240* ‡
MCP-1 (pg/ml)	93	0.102	89	-0.025
E-selectina (pg/ml)	105	0.189	91	0.099
ADMA (µmol/l)	105	0.286**§	97	0.115
EPCs	126	0.245**§	106	0.019
DDVE (mm)	158	0.055	127	-0.256** ‡
DSVE (mm)	158	0.160* ‡	127	-0.289** ‡
SIV (mm)	158	0.078	127	-0.119
PPVE (mm)	158	0.068	127	-0.119
MVE (g)	158	0.076	127	-0.264** ‡
IMVE	158	0.234*§	127	-0.109
cIMT (mm)	157	0.181*§	127	-0.177*

IMC, índice de massa corporal; %MG, percentagem de massa gorda; CAbd, circunferência abdominal; PAs, pressão arterial sistólica; PAd, pressão arterial diastólica; CT, colesterol total; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; TG, triglicerídeos; Apo A-I, apolipoproteína A-I; Apo B, apolipoproteína B; ApoB/ApoA-I, rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I; Lp(a), lipoproteína (a); HOMA-IR, *homeostasis model assessment-insulin resistance*; PCRus, proteína C-reativa ultra-sensível; MCP-1, proteína quimioatrativa dos monócitos-1; ADMA, dimetilarginina assimétrica; EPCs, número de células progenitoras endoteliais circulantes; DDVE, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE, diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; SIV, diâmetro diastólico do septo interventricular; PPVE, diâmetro diastólico da parede posterior do ventrículo esquerdo; MVE, massa ventricular esquerda; IMVE, índice de massa ventricular esquerda; cIMT, espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum.

N, número de casos; § Rô de Spearman; ‡ correlação de Pearson.

p* $<$ 0.05; **p $<$ 0.01,***p $<$ 0.001.

2.1. Correlação entre as adipocinas e a pressão arterial

Conforme expresso na Tabela 9, quer a leptina, quer a adiponectina correlacionaram-se com a pressão arterial sistólica e diastólica, no sentido direto e inverso, respetivamente. Destes, a adiponectina demonstrou ter a correlação mais forte e particularmente com a PAs (Figura 48).

Quando ajustada ao género a leptina correlacionou-se, no sentido direto, com a PAd ($p=0.048$) e a adiponectina, no sentido inverso, com a PAS ($r=-0.276$, $p=0.002$) e a PAd ($r=-0.193$, $p=0.031$).

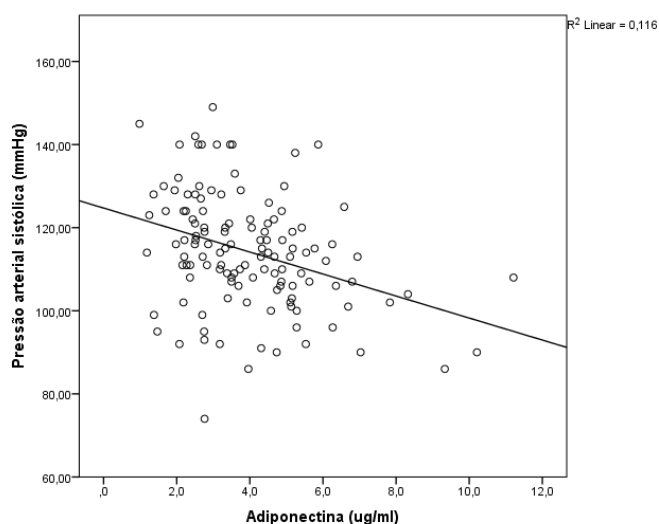


Figura 48- Correlação entre a adiponectina e a pressão arterial sistólica (PAs). No nosso estudo, os níveis mais baixos de adiponectina corresponderam a um aumento da pressão arterial sistólica, sugerindo que a perda da ação anti-inflamatória da adiponectina possa contribuir para a hipertensão arterial na obesidade infantil.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

PAs, (N=127).

A sub-divisão em função do gênero, ajustada à idade, mostrou que apenas nos rapazes (Figura 49) se manteve a correlação direta entre a leptina ($r=0.320$, $p=0.010$) e a PAd ($r=0.350$, $p=0.005$) e a adiponectina, no sentido inverso, com a PAs ($r=-0.318$, $p=0.010$) e a PAd ($r=-0.333$, $p=0.007$).

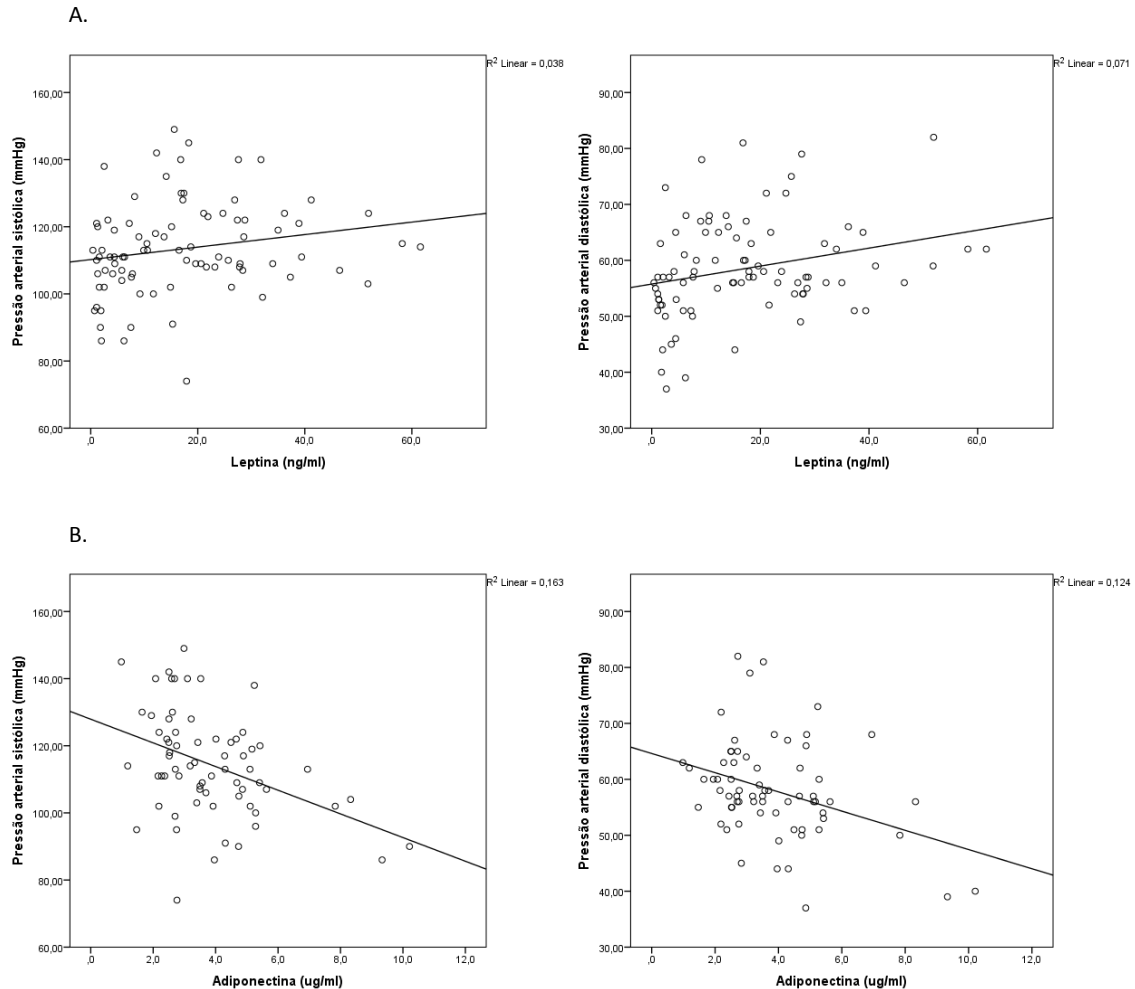


Figura 49- Correlações entre a leptina (A) e a adiponectina (B) com a pressão arterial sistólica (PAs) e diastólica (PAd) nos rapazes. A adiponectina correlacionou-se, no sentido inverso, mais significativamente com os componentes da pressão arterial, implicando um papel mais importante, em relação à leptina, na regulação da pressão arterial.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

Leptina- PAs, (N= 87);PAd, (N= 87).

Adiponectina- PAs, (N= 68);PAd, (N= 68).

No grupo de crianças obesas com pré- e hipertensão arterial sistólica, e após ajuste à idade, apenas a adiponectina se correlacionou, no sentido inverso, com estes parâmetros ($p=0.022$, $OR=0.628$), implicando um papel mais importante com a hipertensão arterial nas crianças obesas.

No grupo de crianças obesas, as adipocinas não se correlacionaram com a hipertensão arterial diastólica.

2.2. Correlação entre as adipocinas e os lípidos e as lipoproteínas

Na Tabela 9 é possível observar as correlações entre as adipocinas e os lípidos.

A leptina correlacionou-se no sentido direto com o CT, a LDL-C e os TG e no sentido inverso com a HDL-C. Já a adiponectina correlacionou-se diretamente com o CT e a HDL-C (Figura 50-A) e, no sentido inverso, com os TG.

O ajuste à idade, mostrou que a adiponectina manteve uma correlação significativa com os TG ($r=-0.196$, $p=0.03$).

Das lipoproteínas, as correlações mais significativas foram entre a leptina e a ApoB, no sentido direto (Figura 50-B), e a adiponectina e a ApoA-I, no sentido direto, conforme demonstrado na Tabela 9. As adipocinas não se correlacionaram com a Lp(a).

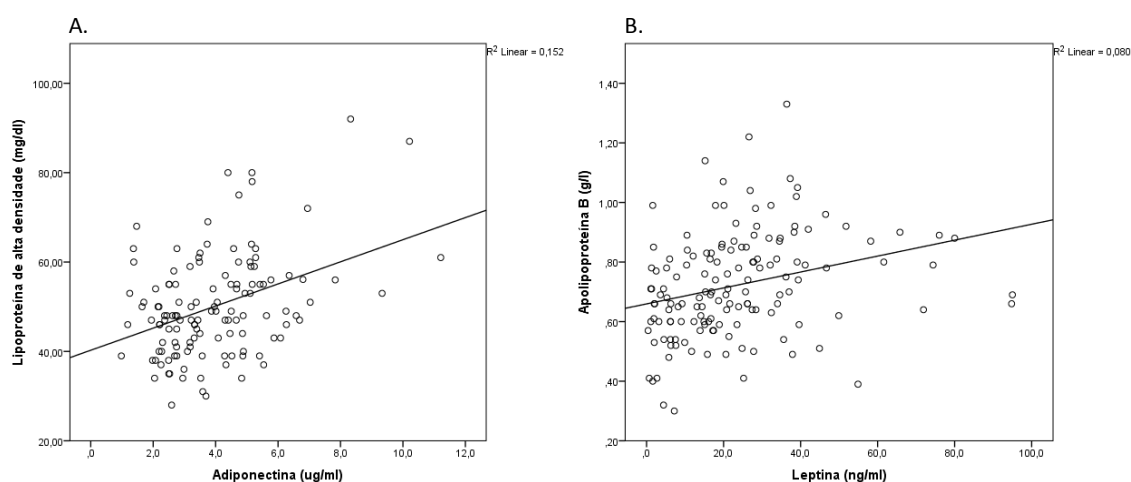


Figura 50- Correlações entre a adiponectina e a lipoproteína de alta densidade [HDL-C,(A)] e entre a leptina e a apolipoproteína B [ApoB,(B)]. A correlação mais robusta entre as adipocinas e os lípidos deu-se entre a adiponectina e a HDL-C e, com as lipoproteínas, entre a leptina e a ApoB.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

HDL-C, (N=127); ApoB, (N=145).

Relativamente aos lípidos, a sub-divisão em função do género, ajustado à idade, mostrou que, nos rapazes, a leptina correlacionou-se, no sentido direto, com a LDL-C ($r=0.394$, $p=0.002$; Figura 51B) e os TG ($r=0.266$, $p=0.044$) e, no sentido inverso

com a HDL-C ($r=-0.388$, $p=0.003$). A adiponectina relacionou-se, no sentido direto, com a HDL-C ($r=0.543$, $p<0.001$, Figura 51A), e, no sentido inverso, com os TG ($r=-0.282$, $p=0.032$).

Nas raparigas não se evidenciaram correlações entre as adipocinas e o perfil lipídico. Nenhuma das adipocinas se correlacionou com o colesterol total.

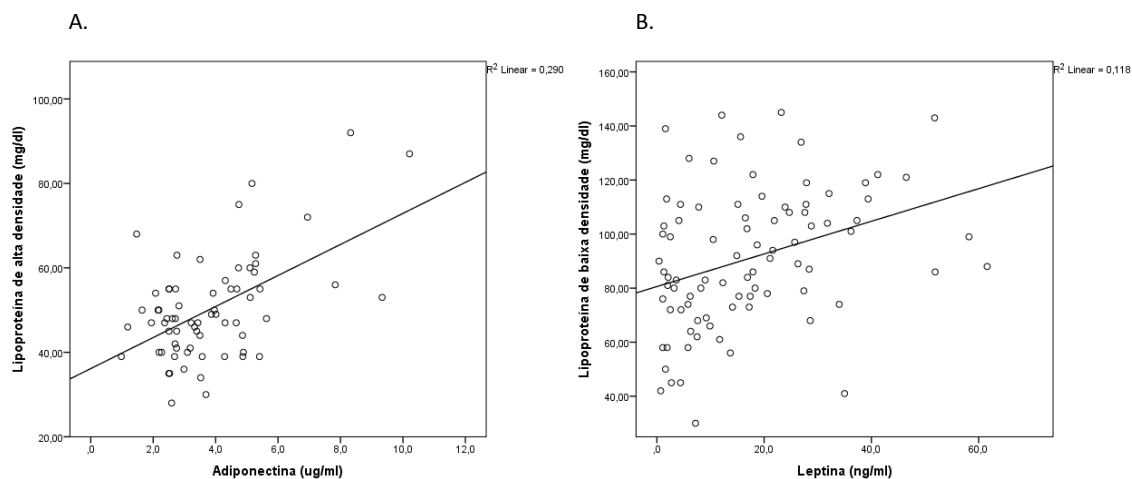


Figura 51- Correlações entre a adiponectina e a lipoproteína de alta densidade [HDL-C,(A)] e entre a leptina e a lipoproteína de baixa densidade [LDL-C,(B)], no grupo dos rapazes. Relativamente às raparigas, nos rapazes, as adipocinas mostraram ter uma correlação mais significativa com os lípidos e, implicitamente um maior perfil aterogénico.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

HDL-C, (N=87); LDL-C, (N=87).

Relativamente às lipoproteínas plasmáticas, a sub-divisão em função do género, ajustado à idade, mostrou que, nos rapazes, a leptina correlacionou-se significativamente, no sentido direto, com a ApoB ($r=0.446$; $p<0.001$; Figura 52-A) e o rácio ApoB/ApoA-I ($r=0.493$, $p<0.001$) e, no sentido inverso, com a ApoA-I ($r=-0.308$, $p=0.019$). A adiponectina correlacionou-se, também no sentido direto, com a ApoA-I ($r=0.508$, $p<0.001$; Figura 52-B) e, no sentido inverso, com o rácio ApoB/ApoA-I ($r=-0.280$, $p=0.033$).

Não se verificaram correlações significativas entre as adipocinas e as lipoproteínas plasmáticas, no grupo das raparigas.

As alterações observadas nos rapazes favorecem uma predisposição pró-aterogénica, que contribuem para um maior risco cardiovascular neste género.

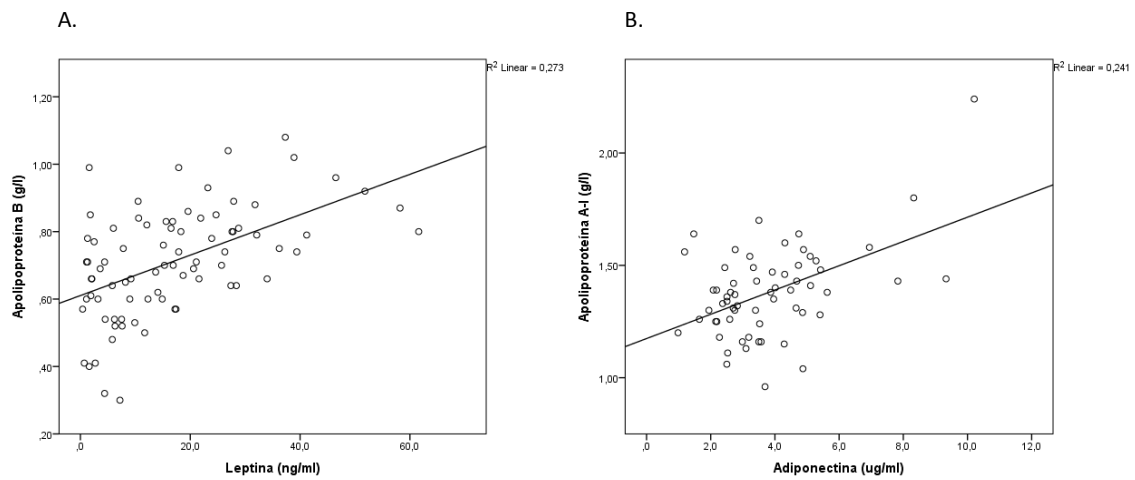


Figura 52- Correlações entre a leptina e a apolipoproteína B [ApoB,(A)] e entre a adiponectina e a apolipoproteína A-I [ApoA-I,(B)], no grupo dos rapazes. Relativamente às raparigas, nos rapazes, as adipocinas mostraram ter uma correlação mais significativa com as lipoproteínas plasmáticas, contribuindo para um perfil aterogénico mais agressivo neste grupo.

R² linear, coeficiente de determinação.

ApoB, (N=81); ApoA-I, (N=62).

2.3. Correlação entre as adipocinas e o índice de insulino-resistência

A leptina (Figura 53) correlacionou-se, no sentido direto, e a adiponectina, no sentido inverso, com o HOMA-IR, como se pode verificar na Tabela 9. O ajuste ao género mostrou que a leptina manteve-se diretamente correlacionada com o HOMA-IR ($r=0.405$, $p<0.001$).

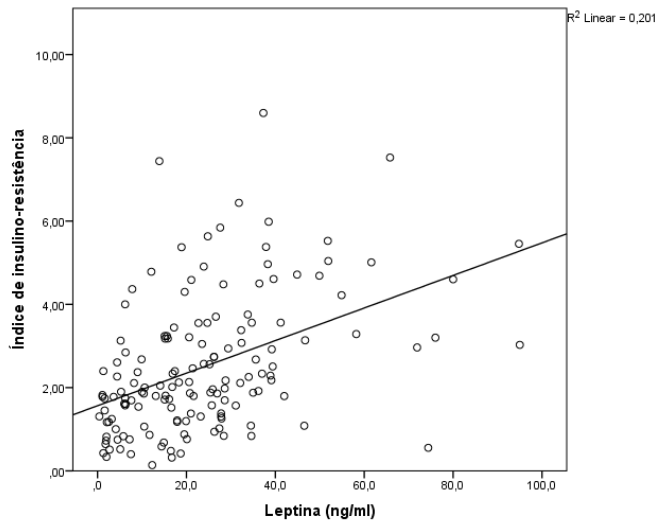


Figura 53- Correlação entre a leptina e o índice de insulino-resistência (HOMA-IR). A variância entre a leptina e o HOMA-IR é de cerca de 20%, o que sugere uma associação importante entre a leptina e a insulino-resistência.

HOMA-IR, *homeostasis model assessment-insulin resistance*

R^2 linear, coeficiente de determinação.

HOMA-IR, (N=149).

Na sub-divisão em função do género, nos rapazes, a leptina correlacionou-se diretamente ($r=0.479$, $p<0.001$) e a adiponectina ($\rho=-0.422$, $p=0.001$), no sentido inverso, com o HOMA-IR. Nas raparigas, apenas a leptina se correlacionou, no sentido direto, com o HOMA-IR ($\rho=0.425$, $p<0.001$; Figura 54).

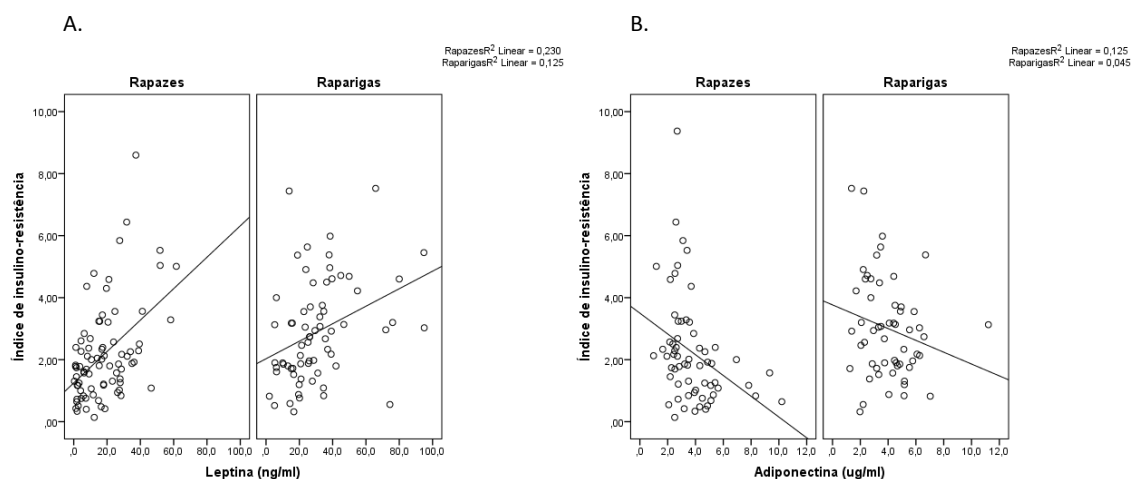


Figura 54- Correlações entre a leptina (A) e a adiponectina (B) e o índice de insulino-resistência (HOMA-IR), em função do género. Nesta análise, no grupo dos rapazes verificou-se uma correlação mais forte, no sentido direto, entre a leptina e o HOMA-IR.

HOMA-IR, *homeostasis model assessment-insulin resistance*

R^2 linear, coeficiente de determinação.

Leptina- rapazes, (N= 81); raparigas, (N=59).

Adiponectina- rapazes, (N=59); raparigas, (N= 56).

Quanto à relação entre as adipocinas e a insulino-resistência (HOMA-IR > 3), verificámos que apenas a leptina ($p<0.001$) se correlacionou, no sentido direto, com a IR, relação que se manteve ajustando ao género ($p<0.001$, OR=1.054).

A sub-análise em função do género mostrou que, em ambos, apenas a leptina (rapazes: $p=0.002$, OR=1,077; raparigas: $p=0.005$, OR=1,039) se manteve significativamente correlacionada. A adiponectina correlacionou-se, no sentido inverso, com a IR apenas no grupo de rapazes ($p=0.005$, $R=0,496$).

Estes resultados sugerem que as adipocinas no contexto da adiposidade, independentemente do género, têm um papel importante na génese da insulino-resistência.

2.4. Correlação entre as adipocinas e os marcadores inflamatórios

A leptina (Figura 55) e a adiponectina correlacionaram-se com a PCRus, no sentido direto e inverso, respectivamente, sendo a correlação mais forte com a leptina (Tabela 9). Neste estudo as adipocinas não apresentaram correlação significativa com a MCP-1, mesmo após ajuste à idade.

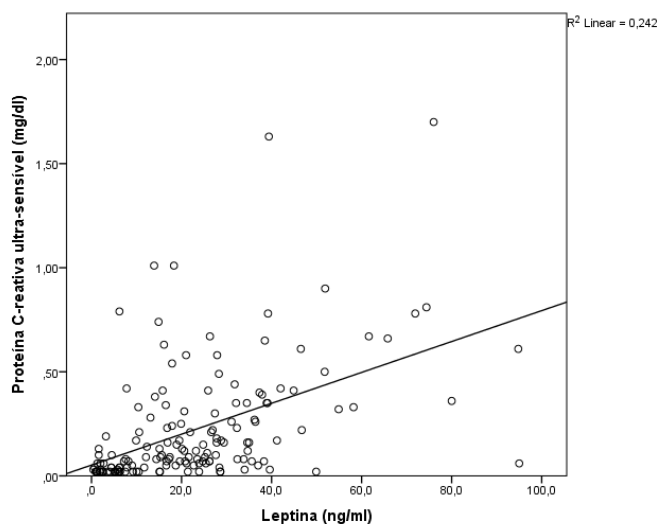


Figura 55- Correlação entre a leptina e a proteína C-reativa ultra-sensível (PCRus). A correlação moderada entre a leptina e a PCRus sugere uma relação importante com o processo inflamatório que caracteriza a obesidade.

R² linear, coeficiente de determinação.

PCRus, (N=156).

A sub-divisão em função do gênero mostrou que as correlações entre a leptina e a PCRus mantiveram-se, no sentido direto, no grupo dos rapazes ($\rho=0.668$, $p<0.001$) e das raparigas ($\rho=0.433$, $p<0.001$; Figura 56).

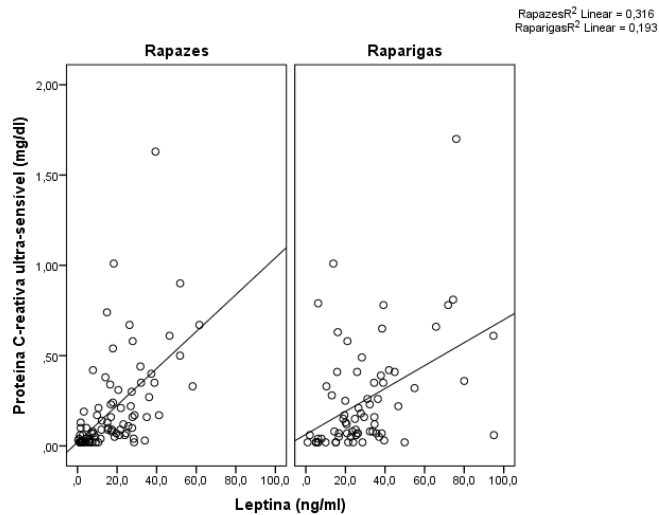


Figura 56- Correlação entre a leptina e a proteína C-reativa ultra-sensível (PCRus) em função do gênero. Nos rapazes, a leptina correlacionou-se diretamente e moderadamente, implicando estes dois marcadores no processo inflamatório que caracteriza a obesidade. R^2 linear, coeficiente de determinação. PCRus- rapazes, (N=86); raparigas, (N=70).

2.5. Correlação entre as adipocinas e a E-selectina

Não se observaram correlações significativas entre as adipocinas e a E-selectina (Tabela 9), excetuando quando ajustado ao género em que a leptina se correlacionou diretamente com a E-selectina ($r=0.264$, $p=0.013$).

A sub-divisão em função do género mostrou apenas uma correlação significativa entre a leptina e a E-selectina ($r=0.417$, $p=0.005$) no grupo dos rapazes, como se pode observar na Figura 57.

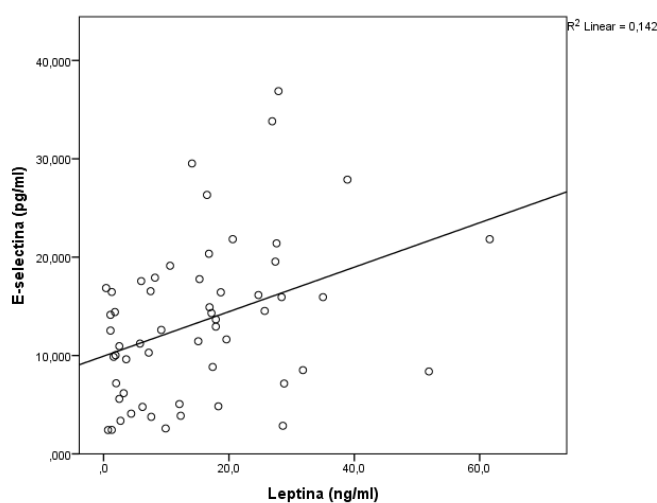


Figura 57- Correlação entre a leptina e a E-selectina no grupo dos rapazes. A correlação entre a leptina e a E-selectina sugere uma relação entre esta adipocina e a ativação endotelial.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

E-selectina, (N=56).

2.6. Correlação entre as adipocinas e a dimetilarginina assimétrica e o número de células progenitoras endoteliais circulantes

Observou-se uma correlação, no sentido direto, da leptina com a dimetilarginina assimétrica (ADMA) e com o número de células progenitoras endoteliais circulantes (EPCs), não se verificando esta relação com a adiponectina (Tabela 9), mesmo após ajuste à idade.

A sub-divisão por género mostrou que a relação direta entre a leptina e a ADMA, manteve-se apenas no grupo das raparigas ($p=0.451$, $p=0.01$; Figura 58), enquanto a relação desta adipocina com as EPCs foi observada apenas nos rapazes

($p=0.272$, $p=0.025$; Figura 59). Nesta análise não se observaram correlações com a adiponectina.

Estes resultados sugerem uma relação entre a disfunção do adipócito, no contexto da obesidade, e a ativação do endotélio e mecanismos reparadores endoteliais.

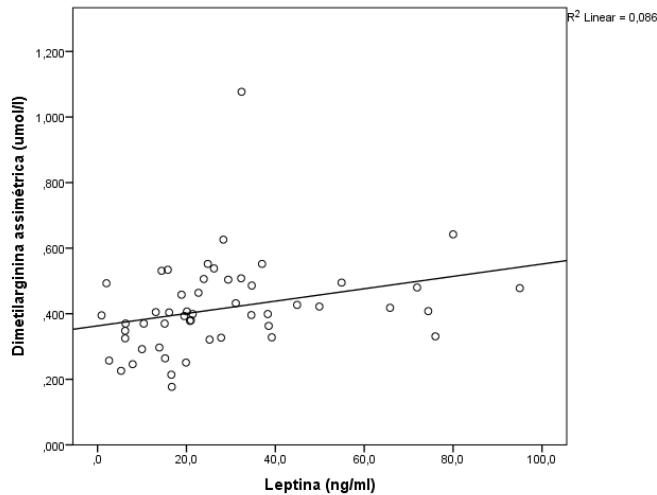


Figura 58- Correlação entre a leptina e a dimetilarginina assimétrica (ADMA) no grupo das raparigas. R^2 linear, coeficiente de determinação. ADMA- raparigas, (N=52).

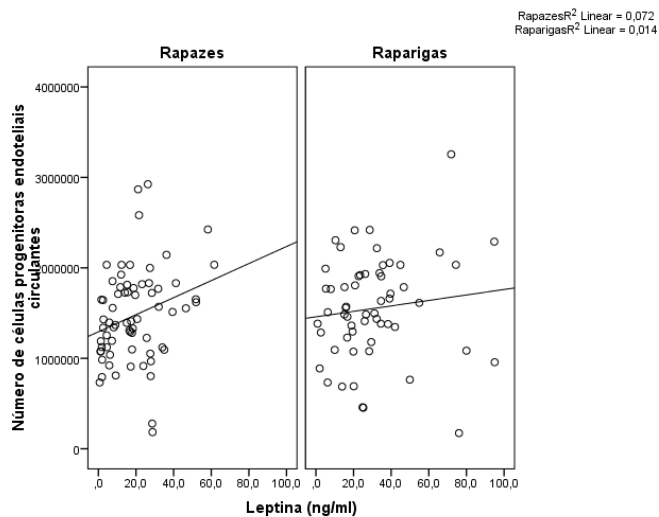


Figura 59- Correlação entre a leptina e o número de células progenitoras endoteliais circulantes (EPCs) em função do género. A correlação direta entre a leptina e as EPCs sugere uma resposta reparadora no contexto da adiposidade.

R^2 linear, coeficiente de determinação. EPCs- rapazes, N=68; raparigas, N=58.

2.7. Correlação entre as adipocinas e os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo e a geometria ventricular

Como se pode observar na Tabela 9, a leptina correlacionou-se, no sentido direto, com o diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo, a massa e o índice de massa ventricular esquerda. Já a adiponectina correlacionou-se, no sentido inverso, com o diâmetro diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo e a massa ventricular esquerda. A adiponectina, após ajuste à idade, deixou de se correlacionar com estes parâmetros, ao contrário da leptina que manteve uma correlação direta com o DDVE ($r=0.158$, $p=0.048$) e, após ajuste ao género, com a MVE ($r=0.161$, $p=0.044$).

A sub-análise em função do género mostrou que a leptina se correlacionou, no grupo de rapazes e no sentido direto, com o SIV ($r=0.257$, $p=0.040$) e, no grupo das raparigas, com o DDVE ($r=0.266$, $p=0.040$) e com a MVE ($r=0.265$, $p=0.044$). Nesta análise, a adiponectina não se correlacionou com estes parâmetros.

Relativamente à relação das adipocinas com a hipertrofia ventricular esquerda, observámos que apenas a leptina se correlacionou diretamente com este parâmetro mesmo após ajuste à idade ($p=0.021$, $OR=1.02$). Também quando ajustado à idade, pelo mesmo método, mas em função do género, esta relação ocorreu apenas no género masculino ($p=0.017$, $OR=1.04$).

2.8. Correlação entre as adipocinas e a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum

Quer a leptina, quer a adiponectina, correlacionaram-se fracamente, no sentido direto e inverso, respetivamente, com a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum (Tabela 9). Após ajuste à idade e ao género, ambas as adipocinas deixaram de se correlacionar com a cIMT. No entanto, a sub-divisão em função do género, ajustado à idade, mostrou que apenas nas raparigas se observou uma correlação entre a leptina e a cIMT ($r=0.244$, $p=0.040$).

3. MARCADORES INFLAMATÓRIOS

A proteína C-reativa ultra-sensível correlacionou-se no sentido direto, ou no sentido inverso, com os diversos parâmetros avaliados neste estudo, com exceção dos seguintes: PAs, PAd, ADMA, EPCs, Lp(a), DDVE, SIV, PPVE e MVE (Tabela 10). A proteína quimioatrativa dos monócitos-1, correlacionou-se apenas com o IMC, a PAs, o DDVE, o SIV, a MVE e o cIMT (Tabela 10).

À semelhança das avaliações anteriores, abordaremos as correlações mais significativas, para além das já referidas com os índices de adiposidade e as adipocinas.

Tabela 10- Correlações entre os marcadores inflamatórios e os parâmetros estudados

	N	PCRus (mg/dl)	96N	MCP-1(pg/ml)
IMC (Kg/m ²)	158	0.507***§	96	0.235‡
%MG	158	0.535***§	96	0.041
CAbd (cm)	149	0.496***§	92	0.142
PAs (mmHg)	158	0.004	96	0.290**‡
PAd (mmHg)	158	-0.002	96	0.061
HDL-C (mg/dl)	158	-0.335***§	96	-0.100
LDL-C (mg/dl)	158	0.327***§	96	-0.013
TG (mg/dl)	158	0.217**§	96	0.031
ApoA-I (g/l)	146	-0.126	88	-0.093
ApoB (g/l)	146	0.303***§	88	0.010
ApoB/ApoA-I	145	0.357***§	87	0.073
Lp(a)	146	0.045	88	-0.142
HOMA-IR	150	0.251**§	151	0.039
Leptina (ng/ml)	156	0.568***§	93	0.044
Adiponectina(µg/ml)	124	-0.240*‡	89	0.067
E-selectina (pg/ml)	106	0.207*§	95	0.136
ADMA (µmol/l)	104	0.136	77	-0.231
EPCs	127	0.156	78	0.187
DDVE (mm)	158	0.102	96	0.267**§
DSVE (mm)	158	0.163*§	96	0.220**§
SIV (mm)	158	0.078	96	0.252*§
PPVE (mm)	158	-0.015	96	0.093
MVE (g)	158	0.121	96	0.305**§
IMVE	158	0.319**§	96	0.123
clMT (mm)	157	0.069	96	0.158

PCRus, proteína C-reativa ultra-sensível; MCP-1, proteína quimioatrativa dos monócitos-1;IMC, índice de massa corporal; %MG, percentagem de massa gorda; CAbd, circunferência abdominal; PAs, pressão arterial sistólica; PAd, pressão arterial diastólica; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; TG, triglicérides; Apo A-I, apolipoproteína A-I; Apo B, apolipoproteína B; ApoB/ApoA-I, rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I; Lp(a), lipoproteína (a); HOMA-IR, *homeostatis model assessment-insulin resistance*; ADMA, dimetilarginina assimétrica; EPCs, número de células progenitoras endoteliais circulantes; DDVE, diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; DSVE, diâmetro sistólico do ventrículo esquerdo; SIV, diâmetro diastólico do septo interventricular; PPVE, diâmetro diastólico da parede posterior do ventrículo esquerdo; MVE, massa ventricular esquerda; IMVE, índice de massa ventricular esquerda; clMT, espessura da camada íntima-média da artéria carótida comum.

N, número de casos; § Rô de Spearman; ‡ correlação de Pearson.

p* $<$ 0.05; **p $<$ 0.01;***p $<$ 0.001.

3.1. Correlação entre os marcadores inflamatórios e a pressão arterial

Observando a Tabela 10, apenas a MCP-1 apresentou correlação significativa, no sentido direto, com a PAs, que se manteve após ajuste à idade ($r=0.216$, $p=0.036$). Não se verificaram correlações significativas entre os marcadores inflamatórios e a pressão arterial diastólica.

A sub-divisão em função do género mostrou que a MCP-1 manteve-se diretamente correlacionada com a PAs, somente no grupo dos rapazes ($r=0.296$, $p=0.033$, Figura 60). Nesta sub-divisão não se verificaram correlações significativas entre os marcadores inflamatórios e a pressão arterial diastólica.

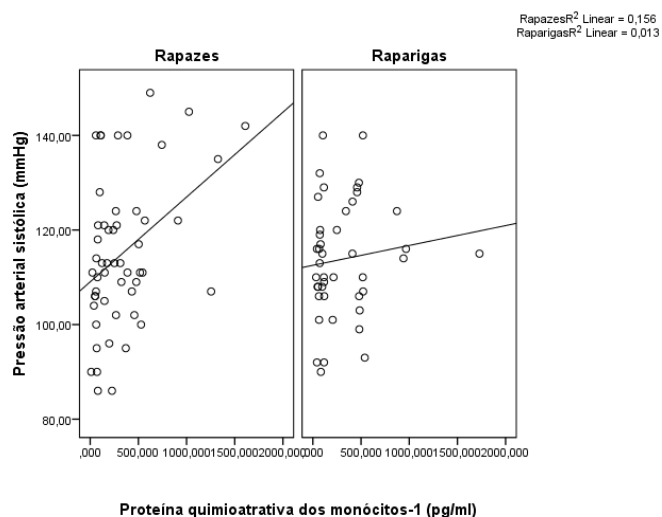


Figura 60- Correlação entre a proteína quimioatrativa dos monócitos (MCP-1) e a pressão arterial sistólica (PAs) em função do género. Nas crianças obesas, a correlação direta entre a MCP-1 e a PAs sugere uma relação entre o processo inflamatório e a hipertensão arterial, particularmente no sexo masculino.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

MCP-1, (N=53).

3.2. Correlação entre os marcadores inflamatórios e os lípidos e as lipoproteínas

Dos dois marcadores inflamatórios, apenas a PCRus mostrou estar significativamente correlacionada com os lípidos: no sentido direto com a LDL-C e os TG e no sentido inverso com a HDL-C (Tabela 10).

As correlações mais significativas dos marcadores inflamatórios com as lipoproteínas plasmáticas observaram-se entre a PCRus com a ApoB e o rácio ApoB/ApoA-I, ambos no sentido direto (Tabela 10).

A sub-divisão em função do género mostrou que apenas no grupo de rapazes e, só a PCRus, se correlacionou, no sentido direto com a LDL-C ($\rho=0.357$; $p=0.001$), a ApoB ($\rho=0.416$; $p<0.001$), o rácio ApoB/ApoA-I ($\rho=0.518$; $p<0.001$; Figura 61) e os TG ($r=0.280$, $p=0.009$) e, no sentido inverso, com a HDL-C ($\rho=0.418$; $p<0.001$) e a ApoA-I ($\rho=-0.253$; $p=0.022$).

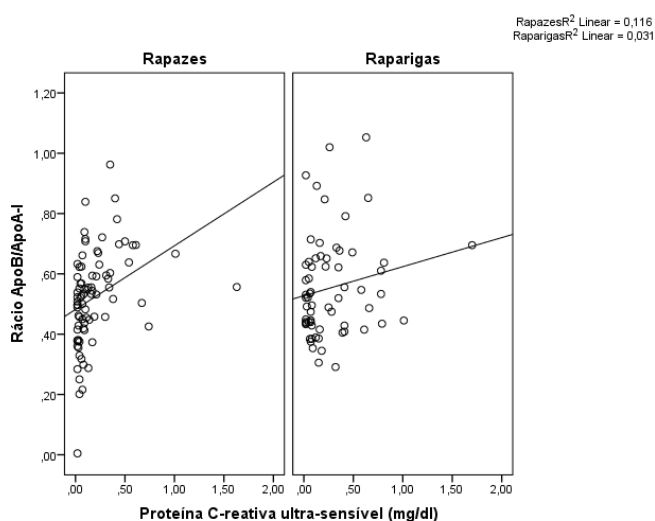


Figura 61- Correlação entre a proteína C-reativa ultra-sensível (PCRus) com o rácio apolipoproteína B/apolipoproteína A-I (rácio ApoB/ApoA-I) em função do género. A PCRus correlacionou-se diretamente com o rácio ApoB/ApoA-I, que é considerado um marcador de risco cardiovascular na vida adulta, demonstrado neste estudo que se manifesta precocemente, em grupos de risco pediátricos.

R² linear, coeficiente de determinação.

Rácio ApoB/ApoA-I- rapazes, (N=81); raparigas, (N=64).

3.3. Correlação entre os marcadores inflamatórios e o índice de insulino-resistência

Ao contrário da MCP-1, a PCRus correlacionou-se, no sentido direto, com o HOMA-IR (Tabela 10 e Figura 62).

Considerando o grupo de crianças insulino-resistentes (HOMA-IR>3), não evidenciámos correlações entre a PCRus, a MCP-1 e este sub-grupo de crianças.

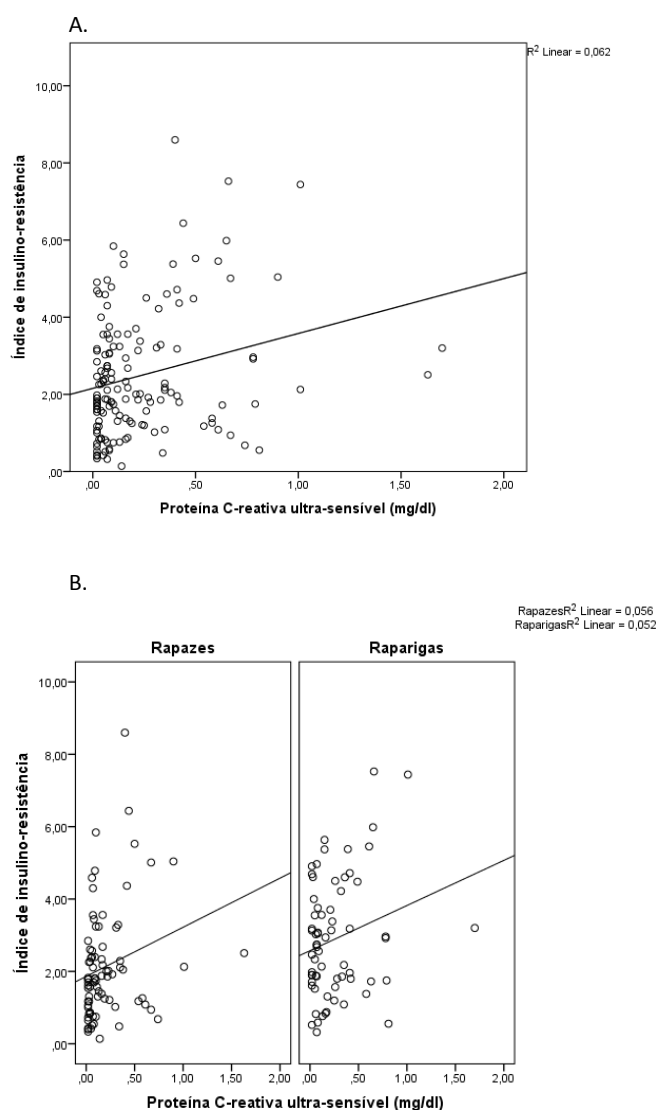


Figura 62- Correlação entre a proteína C-reativa ultra-sensível [PCRus,(A)] e o índice de insulino-resistência (HOMA-IR). A PCRus correlacionou-se diretamente com o HOMA-IR, em ambos os géneros (B), o que sugere uma interligação entre o processo inflamatório e a insulino-resistência na obesidade. R^2 linear, coeficiente de determinação. HOMA-IR- total, (N=150); rapazes, (N=82); raparigas, (N=68).

3.4. Correlação entre os marcadores inflamatórios e a E-selectina, a dimetilarginina assimétrica e o número de células progenitoras endoteliais circulantes

A PCRus mostrou estar correlacionada, no sentido direto, apenas com a E-selectina (Tabela 10), correlação não existente com a MCP-1.

Os marcadores inflamatórios não se correlacionaram com a dimetilarginina assimétrica e o número das células progenitoras endoteliais circulantes.

Considerando a análise em função do género, no grupo dos rapazes observou-se uma correlação direta, mas fraca da PCRus com a E-selectina ($\rho=0.326$, $P=0.013$; Figura 63-A) e as EPCs ($\rho=0.307$; $p=0.010$, Figura 63-B) e da MCP-1 com as EPCs ($\rho=0.367$; $p=0.017$, Figura 64). Não se observaram correlações no grupo de raparigas.

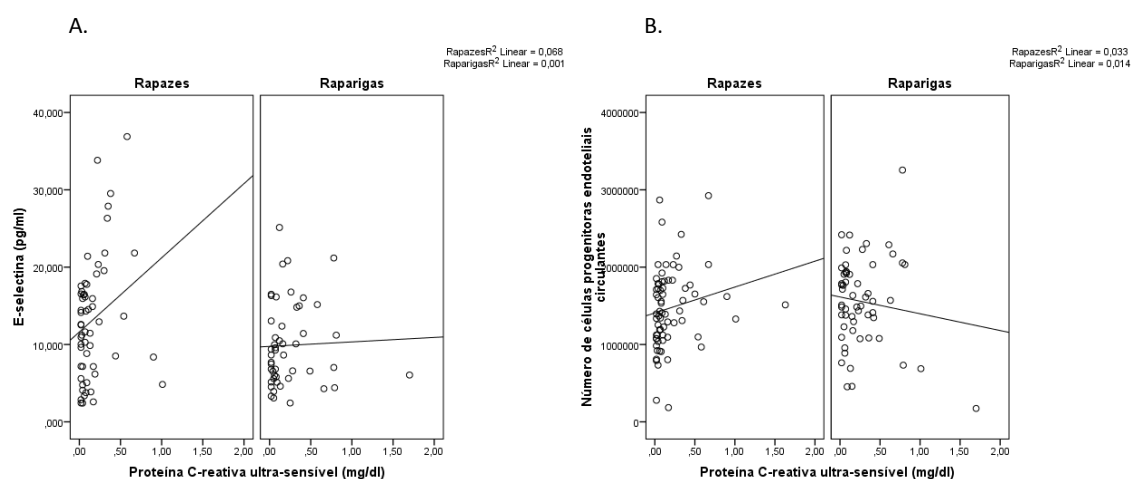


Figura 63- Correlação entre a proteína C-reativa ultra-sensível (PCRus) com a E-selectina (A) e o número de células progenitoras endoteliais circulantes [EPCs,(B)] em função do género. Apesar de fraca, existe uma correlação entre a PCRus com estes dois parâmetros no grupo de rapazes, implicando a possibilidade de uma relação entre o processo inflamatório, a ativação do endotélio e os mecanismos reparadores do endotélio, particularmente no sexo masculino.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

E-Selectina- rapazes, (N=57); raparigas, (N=49).

EPCs- rapazes, (N=70); raparigas, (N=57).

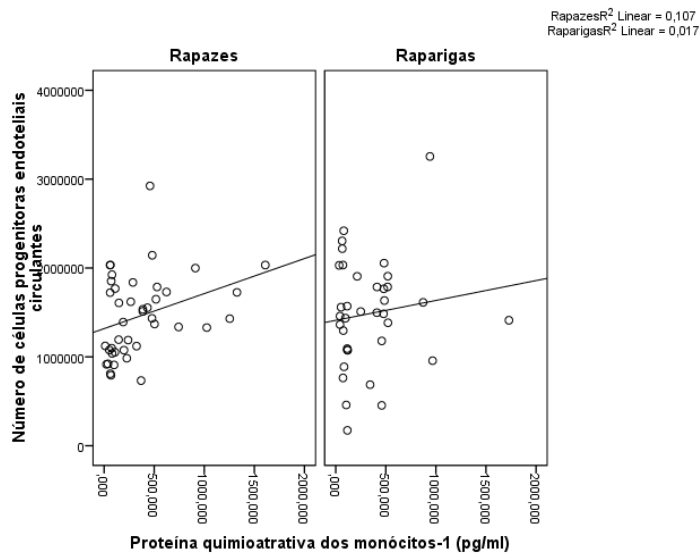


Figura 64- Correlação entre a proteína quimioatrativa dos monócitos (MCP-1) e o número de células progenitoras endoteliais circulantes (EPCs) em função do género. A correlação direta entre a MCP-1 e os mecanismos reparadores do endotélio observada neste estudo sugere que, no contexto de um processo inflamatório, a capacidade reparadora do endotélio, durante a infância, encontra-se íntegra, particularmente no sexo masculino.
 R^2 linear, coeficiente de determinação.
 EPCs- rapazes, (N=42); raparigas, (N=36).

3.5. Correlação entre os marcadores inflamatórios e os diâmetros ecocardiográficos do ventrículo esquerdo e a geometria ventricular

Como se pode observar na Tabela 10, a PCRus correlacionou-se, no sentido direto, com o DSVE e o IMVE. A MCP-1 correlacionou-se, igualmente no sentido direto, com o DDVE, o DSVE, o SIV e a MVE mas, após ajuste á idade, a MCP-1 deixou de ter significado estatístico com estes parâmetros.

A sub-divisão em função do género mostrou que, nos rapazes ($\rho=0.373$; $p<0.001$) e nas raparigas ($\rho=0.274$; $p=0.022$), apenas a PCRus se correlacionou.

3.6. Correlação entre os marcadores inflamatórios e a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum

Os marcadores inflamatórios não se correlacionaram com a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum, mesmo após ajuste à idade e, em função do género.

4. CORRELAÇÕES ENTRE A E-SELECTINA, A DIMETILARGININA ASSIMÉTRICA E O NÚMERO DE CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS CIRCULANTES

Estabelecemos, em seguida, as correlações entre os marcadores de ativação do endotélio e os de reparação endotelial. A E-selectina correlacionou-se, no sentido direto, com a dimetilarginina assimétrica ($\rho = 0.306$, $p=0.003$) e com o número de células progenitoras endoteliais circulantes ($\rho=0.293$; $p=0.005$). A ADMA e as EPCs não se correlacionaram.

A sub-divisão em função do género (Figura 65) mostrou que a E-selectina correlacionou-se, no grupo dos rapazes com as EPCs ($\rho=0.294$, $p=0.042$) e no grupo das raparigas com a ADMA ($\rho=0.307$, $p=0.040$) e as EPCs ($r=0.490$, $p=0.001$).

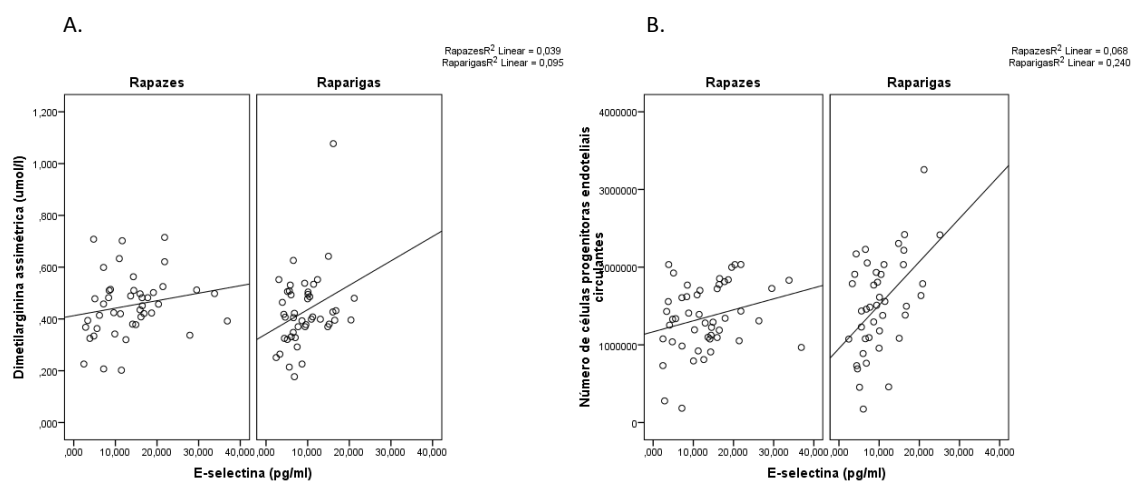


Figura 65- Correlações entre a E selectina e a dimetilarginina assimétrica [ADMA, (A)] e o número de células progenitoras endoteliais circulantes [EPCs,(B)] em função do género. A relação direta da E-selectina com a ADMA e as EPCs sugere que, apesar da biodisponibilidade do óxido nítrico estar comprometida, os mecanismos reparadores do endotélio estão, igualmente, ativados.

R^2 linear, coeficiente de determinação.

ADMA- rapazes, (N=44); raparigas, (N=45).

EPCs- rapazes, (N=48); raparigas, (N=42).

5. VALORES PREDITIVOS: MARCADORES DE ADIPOSIDADE E COMORBILIDADES DA OBESIDADE

A fim de possibilitar, na prática clínica, a aferição de risco relativo às comorbilidades mais frequentemente relacionadas com a obesidade, pretendeu-se estabelecer pontos de corte, a partir dos quais seria possível estabelecer um valor preditivo relativamente ao risco de hipertensão arterial, insulino-resistência e dislipidemia na população em estudo. Como tal, foram estabelecidos pontos de corte, através do cálculo da área sob a curva (ASC) de ROC (*Receiver Operator Curve*; Característica de Operação do Recetor) e, quando o p foi significativo, estimou-se a sensibilidade e a especificidade, através da fórmula de Youden, entre os marcadores de adiposidade e a hipertensão arterial, a insulino-resistência e a dislipidemia.

5.1. Marcadores de adiposidade e hipertensão arterial sistólica

Relativamente à hipertensão arterial sistólica, o marcador com a melhor sensibilidade e especificidade foi a circunferência abdominal, como é possível observar na Figura 66-C. Em relação à hipertensão arterial diastólica nenhum destes marcadores mostrou ser sensível/específico (dados não apresentados).

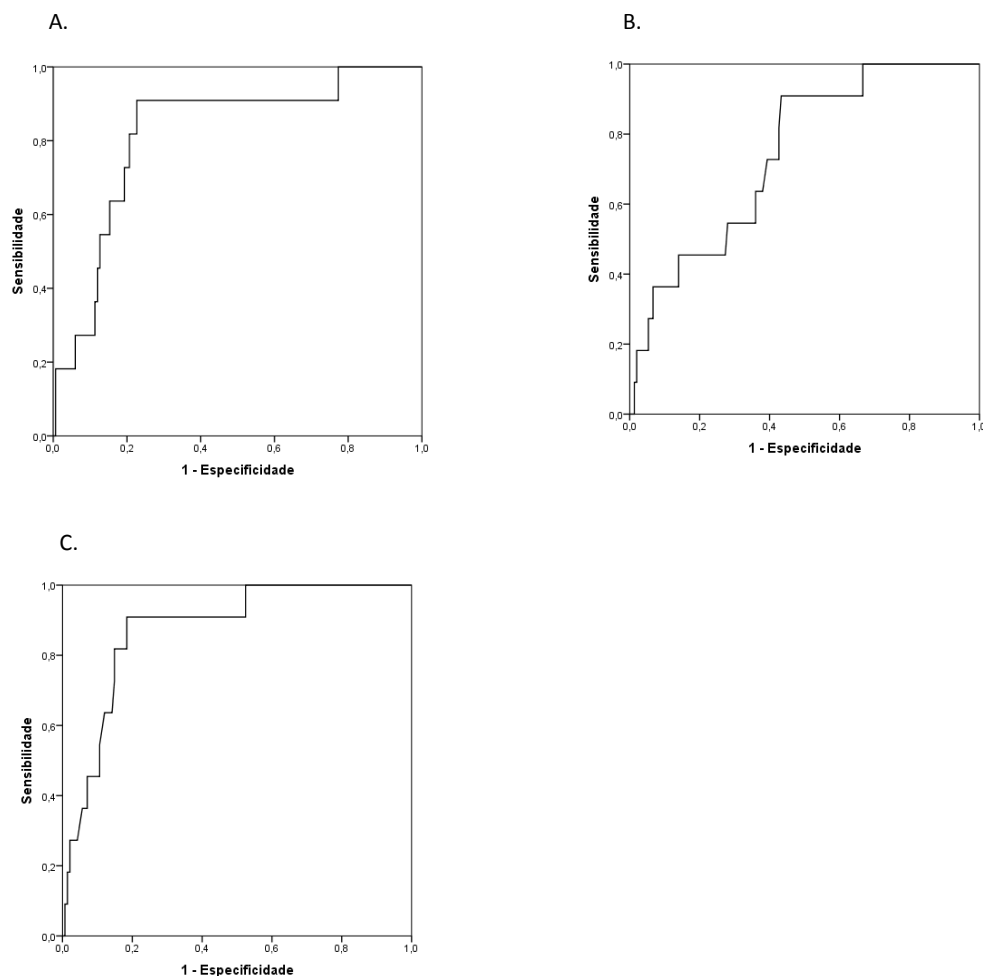


Figura 66- Valores preditivos do índice de massa corporal [IMC,(A)], da percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e da circunferência abdominal [CAbd,(C)], baseado na área sob a curva(ASC) de ROC, em relação à hipertensão arterial sistólica.

IMC: ASC de ROC= 0.82 (IC a 95% de 0.69 a 0.94); $p < 0.001$.

%MG: ASC de ROC= 0.74 (IC a 95% de 0.61 a 0.87); $p = 0.008$.

CAbd: ASC de ROC= 0.87 (IC a 95% de 0.78 a 0.96); $p < 0.001$.

Através da fórmula de Youden calculou-se a sensibilidade e especificidade destes marcadores relativamente à pressão arterial sistólica, tendo-se obtido pontos de corte para o IMC de 29.86 (sensibilidade= 91%; especificidade= 77%), para a %MG

de 33.35% (sensibilidade= 91%; especificidade= 57%) e para a CAbd de 96.25cm (sensibilidade= 91%; especificidade= 82%).

5.2. Marcadores de adiposidade e insulino-resistência

Relativamente ao índice de insulino-resistência, o marcador com a melhor sensibilidade foi o índice de massa corporal (Figura 67-A) e com a melhor especificidade a circunferência abdominal (Figura 67-C).

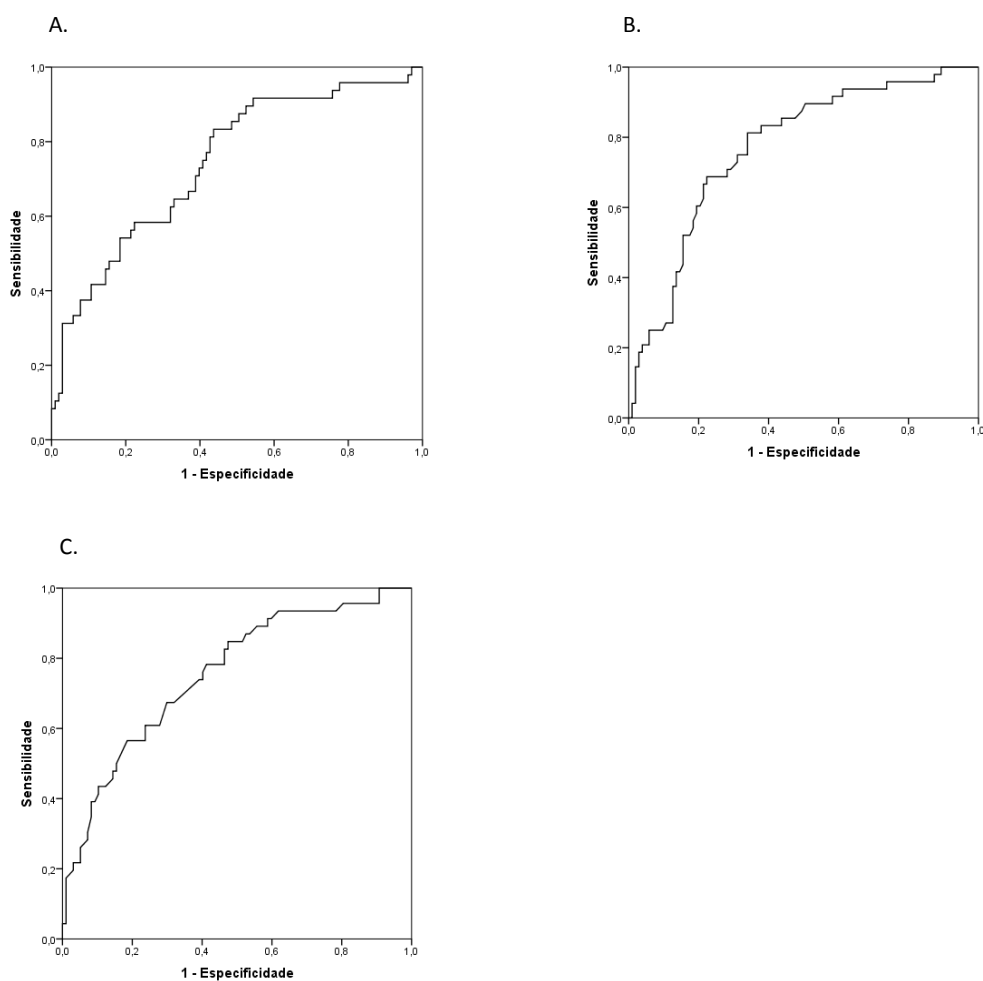


Figura 67- Valor preditivo do índice de massa corporal [IMC,(A)], da percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e da circunferência abdominal [CAbd,(C)], baseado na área sob a curva(ASC) de ROC, em relação à insulino-resistência.

IMC: ASC de ROC= 0.74 (IC a 95% de 0.66 a 0.83); $p < 0.001$

%MG: ASC de ROC= 0.77 (IC a 95% de 0.69 a 0.85); $p < 0.001$

CAbd: ASC de ROC= 0.75 (IC a 95% de 0.67 a 0.84); $p < 0.001$

Calculou-se a sensibilidade e especificidade destes marcadores relativamente à insulino-resistência, através da fórmula de Youden, tendo-se obtido pontos de corte para o IMC de 25.87 (sensibilidade= 83%; especificidade= 56%), para a %MG de 33.85% (sensibilidade= 81%; especificidade= 66%) e para a CAbd de 94.25cm (sensibilidade= 56%; especificidade= 81%).

5.3. Marcadores de adiposidade e dislipidemia

Relativamente à HDL-C (Figura 68) e à LDL-C (Figura 69), o marcador com a melhor sensibilidade foi a percentagem de massa gorda, enquanto nos TG (Figura 70) foi a circunferência abdominal.

5.3.1. Marcadores de adiposidade e lipoproteína de alta densidade

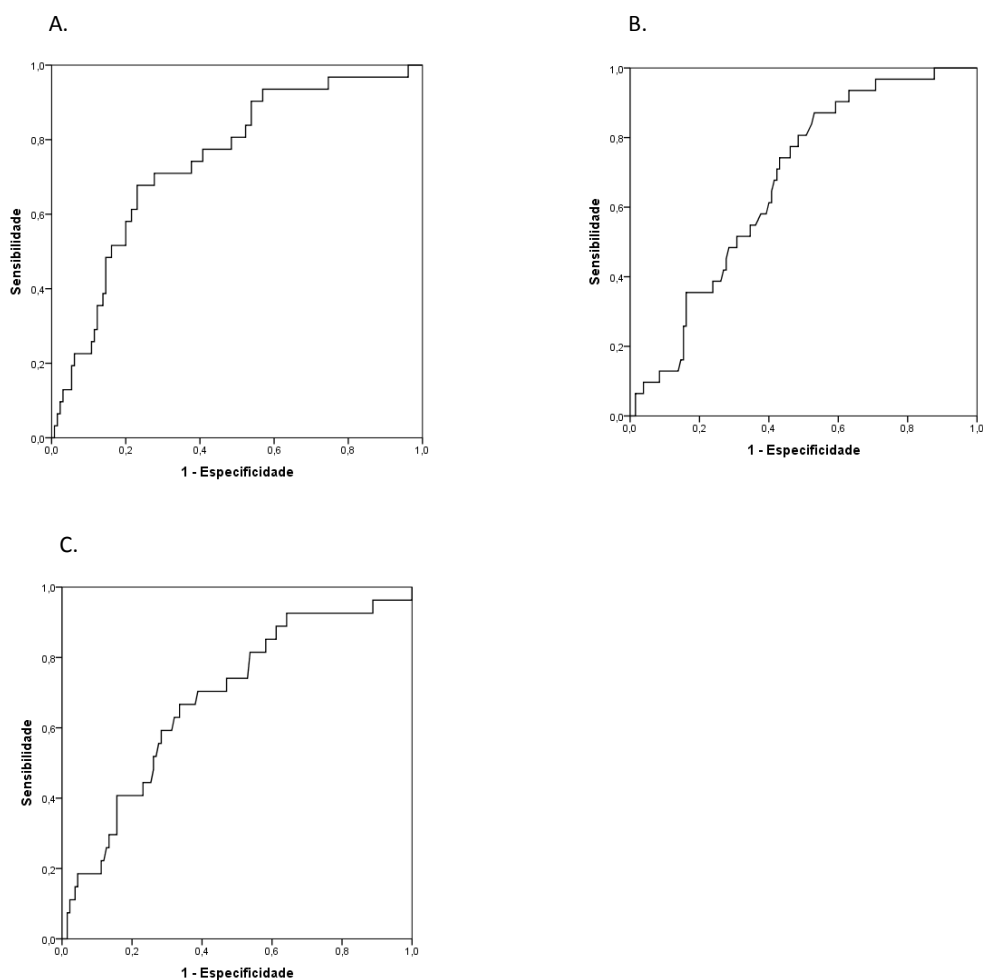


Figura 68- Valor preditivo do índice de massa corporal [IMC,(A)], da percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e da circunferência abdominal [CABd,(C)], baseado na área sob a curva(ASC) de ROC, em relação à lipoproteína de alta densidade.

IMC: ASC de ROC= 0.74 (IC a 95% de 0.65 a 0.84); p<0.001

%MG: ASC de ROC= 0.67 (IC a 95% de 0.58 a 0.76); p=0.003

CABd: ASC de ROC= 0.73 (IC a 95% de 0.64 a 0.83); p <0.001

A sensibilidade e especificidade dos marcadores de adiposidade relativamente à HDL-C <40mg/dl, foi calculado através da formula de Youden, tendo-se obtido pontos

de corte para o IMC de 28.68 (sensibilidade= 68%; especificidade= 77%), para a %MG de 30.65% (sensibilidade= 87%; especificidade= 53%) e para a CAAbd de 93.25cm (sensibilidade= 62%; especificidade= 76%).

5.3.2. Marcadores de adiposidade e lipoproteína de baixa densidade

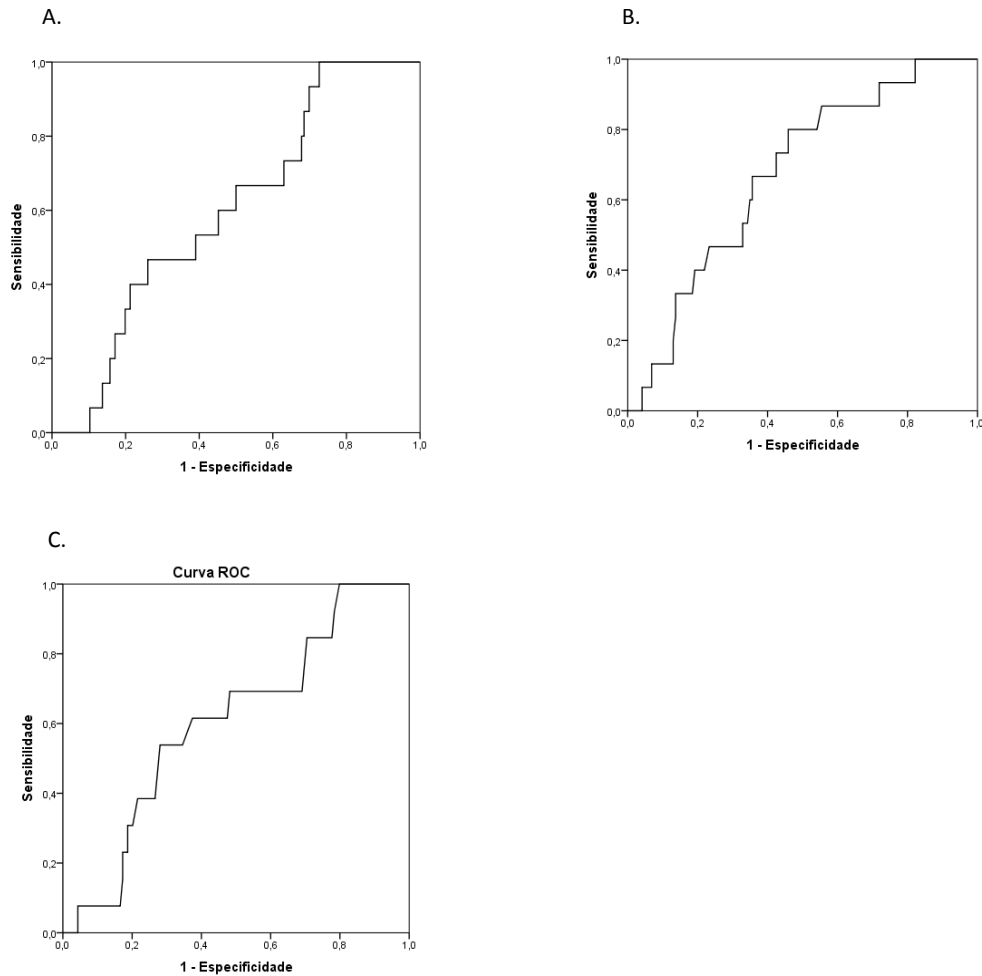


Figura 69- Valor preditivo do índice de massa corporal [IMC,(A)], da percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e da circunferência abdominal [CAAbd,(C)], baseado na área sob a curva(ASC) de ROC, em relação à lipoproteína de baixa densidade.

IMC: ASC de ROC= 0.60 (IC a 95% de 0.47 a 0.73); p=0.203

%MG: ASC de ROC= 0.67 (IC a 95% de 0.54 a 0.80); p=0.029

CAAbd: ASC de ROC= 0.61 (IC a 95% de 0.46 a 0.75); p =0.211

Utilizando a mesma fórmula foi calculada a sensibilidade e especificidade dos marcadores de adiposidade relativamente à LDL-C >130mg/dl, tendo-se obtido ponto de corte para a %MG de 30.35% (sensibilidade= 80%; especificidade= 54%).

5.3.3. Marcadores de adiposidade e triglicerídeos

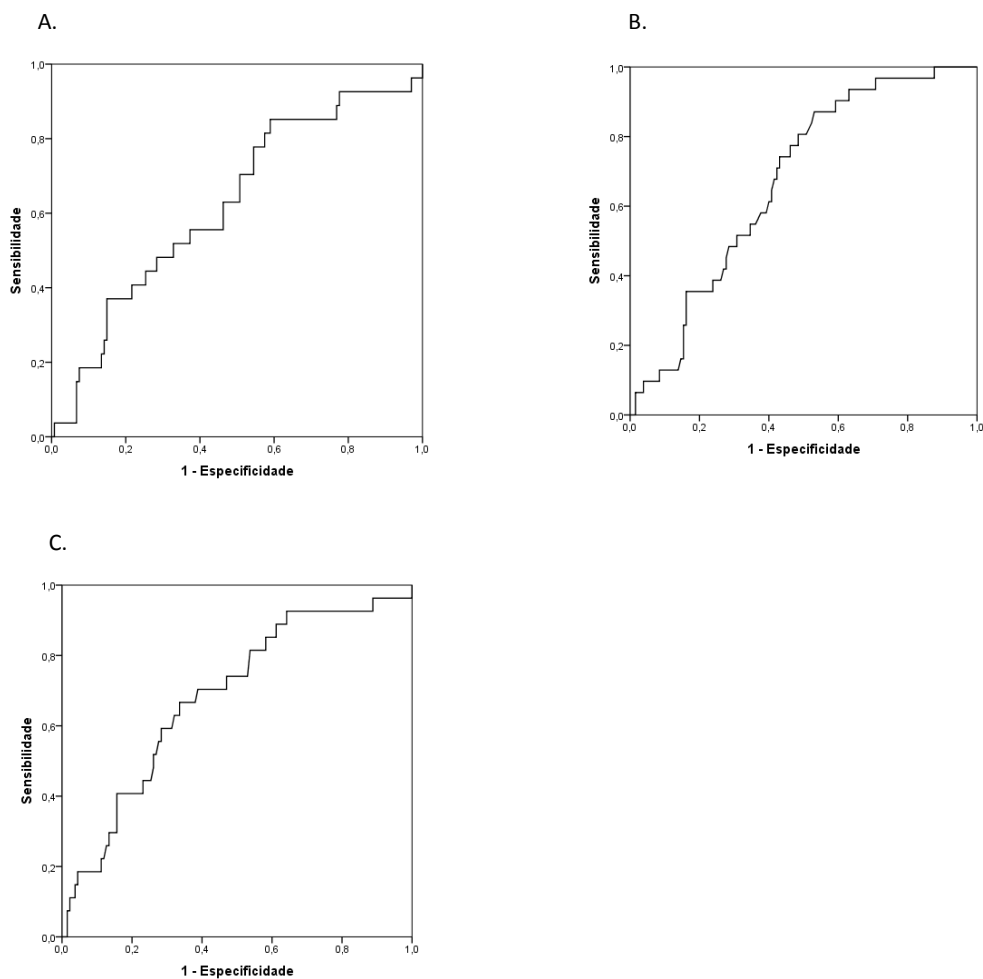


Figura 70- Valor preditivo do índice de massa corporal [IMC,(A)], da percentagem de massa gorda [%MG, (B)] e da circunferência abdominal [CAbd,(C)], baseado na área sob a curva(ASC) de ROC, em relação aos triglicerídeos.

IMC: ASC de ROC= 0.62 (IC a 95% de 0.51 a 0.74); p=0.044

%MG: ASC de ROC= 0.68 (IC a 95% de 0.57 a 0.79); p=0.003

CAbd: ASC de ROC= 0.64 (IC a 95% de 0.53 a 0.76); p =0.023

Através da fórmula de Youden calculou-se a sensibilidade e especificidade destes marcadores relativamente à hipertrigliceridémia, tendo-se obtido pontos de corte para a %MG de 35.25% (sensibilidade= 67%; especificidade= 66%) e para a CAbd de 83.50cm (sensibilidade= 84%; especificidade= 54%).

CAPÍTULO 4

DISCUSSÃO

1. INTRODUÇÃO

Face à crescente prevalência da obesidade infantil, pretendeu-se, numa amostra representativa de crianças portuguesas, obesas e não obesas, fazer uma análise clínico-analítico-morfológica, que focasse aspetos relacionados com o risco cardiovascular. Da análise comparativa entre os grupos em estudo e as respetivas correlações estabelecidas, ficou claro que, a população obesa representa, indiscutivelmente, um grupo de risco, não só pelo facto de se terem demonstrado correlações entre os marcadores de adiposidade e a ativação endotelial mas, também, pela prevalência de alterações clínicas, metabólicas e morfológicas favoráveis ao desenvolvimento precoce da diabetes *mellitus* e doenças cardiovasculares no jovem adulto.

Não conhecemos qualquer estudo realizado na população pediátrica portuguesa que envolva os aspetos analisados e, em particular, a relação entre a adiposidade e a precocidade das comorbilidades existentes na nossa população. Também não consideramos este estudo como terminado: foi estabelecida uma base de referência que nos permitirá, prospetivamente, avaliar a evolução destas crianças, facto que realça a pertinência deste trabalho.

2. OBESIDADE: O PESO DA HEREDITARIEDADE E OS ESTILOS DE VIDA

Reforçámos, com este estudo, a importância da hereditariedade e a influência dos estilos de vida na obesidade infantil.

A probabilidade de uma criança vir a ser obesa aumenta consideravelmente se um dos pais for obeso, estimando-se que cerca de 50% da variabilidade da massa corporal seja explicada pela hereditariedade¹⁶⁴, condicionada, na grande maioria dos casos, por um ambiente obesogénico vivenciado nas famílias.

À semelhança de estudos publicados, verificámos que, no grupo das crianças obesas, cerca de 50% dos pais eram obesos, uma incidência 5 vezes superior ao grupo controlo. Ao contrário de outros estudos em que o índice de massa corporal é principalmente influenciado pelo peso materno, tendência que se mantém do nascimento à infância precoce, no nosso caso, a obesidade foi predominantemente de origem paterna¹⁶⁵.

Whitaker e colaboradores¹⁶⁶ avaliaram em crianças obesas, com pais obesos e em função da faixa etária, o risco de obesidade em idade adulta. Definiram como a fase mais vulnerável e com maior valor preditivo, em que se duplica o risco de obesidade em idade adulta se ambos, pais e filhos, forem obesos, a fase dos 3 aos 9 anos de idade. Para os clínicos, esta faixa etária oferece uma janela de oportunidade para instituir medidas preventivas, visto ser uma idade em que os estilos de vida podem ainda ser influenciados positivamente pelos pais.

Relativamente aos estilos de vida focámos dois aspetos: o tempo de ecrã e a atividade física. Atividades sedentárias, como o excessivo tempo de ecrã (ver televisão, acesso à internet e uso de jogos de computador), que contribuem para o aumento do risco de obesidade, são efetivamente mais frequentes nas crianças obesas, tal como observámos neste estudo. De facto, cerca de dois terços das crianças obesas passaram mais que 2 horas diariamente, durante o período letivo, envolvidas nestas atividades, o que representa 2.5 vezes mais tempo despendido em atividades com baixo gasto energético, do que as crianças não-obesas. Como previsto, também registaram uma atividade física menos intensa que as crianças do grupo controlo, na ordem de 1:1.7.

Baseado na nossa evidência e de outros investigadores⁹, torna-se claro que a ligação entre a base genética e o sedentarismo contribuem assertivamente para a prevalência da obesidade em idade pediátrica. Considerando a elevada probabilidade destas crianças virem a ser adultos obesos, é imprescindível que o nosso alvo terapêutico incida essencialmente sobre os hábitos comportamentais do núcleo familiar e que essa intervenção se realize idealmente antes da adolescência.

3. PESO À NASCENÇA E RESSALTO ADIPOCITÁRIO: MARCADORES PRECOSES DE RISCO CARDIOVASCULAR?

O peso à nascença tem sido uma medida controversa como marcador de risco cardiovascular, visto que, nem todos os estudos realizados são concordantes quanto à sua importância neste contexto. A premissa é que, os fatores que contribuem para a obesidade e a disfunção endotelial evidenciam-se precocemente, nomeadamente o peso à nascença que, por si, reflete o desenvolvimento fetal, sendo este influenciado por fatores maternos como o peso e a glicémia.

A fim de melhor esclarecer a relação do peso à nascença com a obesidade, as meta-análises por Yu²¹ e Schellong¹⁶⁷ concluíram que recém-nascidos com peso de nascença superior aos quatro quilogramas, têm maior risco de virem a ser obesos³¹, com um *odds ratio* estimado de 2.07, ao contrário daqueles com baixo peso à nascença (< 2.5Kg). Este ponto de corte seria de extrema utilidade na prática clínica, visto que o tratamento da obesidade, baseado em modificações comportamentais, é pautado inúmeras vezes pelo insucesso e, como tal, seria necessário assumir uma conduta preventiva logo durante a gestação, dirigida a um melhor controlo do peso materno e da glicémia, a fim de diminuir a incidência da macrosomia e, futuramente, do excesso de peso e, implicitamente, dos seus efeitos nocivos.

O nosso estudo não foi concordante com estes achados, explicável, pelo menos em parte, pelo facto de a nossa amostra, apesar de representativa da nossa população, apresentar um menor número de casos. Na nossa análise, um peso de nascença superior a 4kg não implica uma maior incidência de futura obesidade ou de comorbilidades cardiovasculares, pelo menos durante a infância. Não verificámos uma relação significativa entre um peso de nascença superior a 4Kg e os marcadores de adiposidade. O mesmo aconteceu quando correlacionámos o peso de nascença superior aos 4Kg com a pressão arterial, o índice de insulino-resistência e o perfil lipídico.

No entanto, ter baixo peso à nascença (<2.5Kg) não implica necessariamente um menor grau de risco cardiovascular, apesar de se associar a um menor risco de futura obesidade. Daí que, o baixo peso à nascença tenha sido alvo de vários trabalhos pela sua presumível relação com a disfunção endotelial, mesmo durante a infância^{31,168}. Leeson e colaboradores¹⁶⁹ demonstraram que a biodisponibilidade do óxido nítrico encontrava-se comprometida em crianças com baixo peso à nascença, assim como em jovens adultos com peso normal. No nosso estudo não observámos qualquer relação entre o baixo peso à nascença e os marcadores da ativação endotelial incluídos neste estudo.

Alguns autores defendem que não é apenas o peso à nascença que se correlaciona com a adiposidade mas, também, a velocidade de crescimento ponderal durante períodos críticos do desenvolvimento^{27,170}; daí a importância de avaliarmos o ressalto adipocitário como possível marcador de obesidade na vida adulta e possível

compromisso metabólico e cardiovascular. No grupo de crianças obesas, o ressalto adipocitário ocorreu em média por volta dos 3.5 anos de idade, quando normalmente ocorre entre os 5 e os 6 anos de idade, como evidenciado no nosso grupo controlo. Baseado nesta evidência, não nos é possível atualmente predizer se estas crianças serão futuros adultos obesos. No entanto, foi possível estabelecer que, nestas crianças, o ressalto adipocitário não se correlacionou com a incidência de insulino-resistência, hipertensão arterial ou dislipidémia

Assim, podemos afirmar que, na nossa população, o peso à nascença e o ressalto adipocitário não aparentam ser bons marcadores de risco cardiovascular durante a infância, salvaguardando o facto de estarmos perante uma amostra com um número de casos inferior aos estudos acima referidos. É importante salientar que, no nosso trabalho, apesar de não termos evidência que estes marcadores tenham capacidade de aferir risco, estes devem ser valorizados na prática clínica, pois ambos implicam a aquisição precoce de tecido adiposo em excesso, que não deixa de ter, a longo prazo, consequências graves na saúde pública.

4. ADIPOSIDADE, ADIPOCINAS E INFLAMAÇÃO

O tecido adiposo, sendo um órgão metabolicamente ativo, expressa inúmeras substâncias bioativas que, nos obesos, participam nos mecanismos fisiopatológicos que contribuem para as doenças cardiovasculares e a diabetes *mellitus* tipo 2.

Optámos por estudar duas adipocinas de particular relevo na obesidade, a leptina e adiponectina, e o seu contributo para o processo inflamatório.

Para além do seu papel no balanço energético, a leptina é também uma importante substância imunomoduladora. É um elemento da família das citocinas que partilha semelhanças estruturais com outras moléculas inflamatórias, como é o caso da interleucina-6 (IL-6), sendo considerada uma citocina pró-inflamatória. Algumas células imunes têm recetores para a leptina, que influencia, assim, a função de linfócitos-T, *natural killer cells*, macrófagos e monócitos, para além de participar na expressão de outros agentes pró-inflamatórios como a proteína C-reativa, fulcral nos mecanismos relacionados com a doença aterosclerótica^{171,172}.

Parte dos efeitos metabólicos da adiponectina são contrários aos da leptina e, em indivíduos saudáveis, apresenta propriedades anti-aterogénicas. Na obesidade, os

níveis de adiponectina encontram-se reduzidos. Alguns estudos realizados em adultos obesos mostraram que a hipoadiponectinemia se correlaciona com lesões coronárias, e constitui um fator de risco independente para a diabetes *mellitus* tipo 2^{173,174}.

Começámos por comparar os grupos em estudo e demonstrámos uma clara e significativa diferença entre estes: nos obesos, a leptina encontra-se mais elevada do que no grupo controlo ao contrário da adiponectina que apresenta um perfil inverso ao da leptina, padrão amplamente conhecido e com uma forte correlação com os marcadores de adiposidade.

Atendendo à relação destas adipocinas com as doenças cardiovasculares no estado adulto, estabelece-se um padrão que consideramos significativo pela sua precocidade e que, no nosso estudo, se evidenciou em crianças tão jovens como os 6 anos de idade.

Os níveis séricos da leptina refletem a massa gorda e são influenciados pelo género e idade. Em crianças não obesas, estes níveis aumentam em ambos os géneros até à puberdade, altura em que continua a aumentar nas raparigas (ao adquirirem mais massa gorda) e a diminuir nos rapazes, nestes, provavelmente pelos efeitos da testosterona^{175,176,177}. A adiponectina relaciona-se com o género e a idade: apesar de diminuir com a idade, é menor nos rapazes devido à influência da testosterona¹⁷⁸.

Tendo esta relação em consideração, comparámos os níveis séricos das adipocinas em função do género e, quer na leptina, quer na adiponectina, as médias destes parâmetros estavam mais elevadas no grupo das raparigas.

Apesar de existir este evidente dimorfismo sexual, em que os níveis de leptina e adiponectina encontrarem-se mais elevados nas raparigas, observámos correlações ligeiramente mais fortes entre os marcadores de adiposidade e as adipocinas, no grupo de rapazes. Este achado pode ser explicado parcialmente pela distribuição regional do tecido adiposo, sendo a deposição visceral ligeiramente superior nos rapazes obesos.

À semelhança de Spolidoro e colaboradores¹⁷⁹ considerámos a circunferência abdominal como representativa da gordura visceral. Evidenciámos que a circunferência abdominal, correlacionou-se mais fortemente e no sentido direto, no grupo de rapazes obesos, com a leptina, assim como com a adiponectina, no sentido inverso, relações que, potencialmente, podem contribuir para um perfil mais

aterogénico no grupo de rapazes, facto que realça a importância do género masculino com fator de risco cardiovascular, já durante a infância.

Estabelecida a relação entre os marcadores de adiposidade e as adipocinas, procurámos perceber de que forma, se alguma, estes se relacionavam com os marcadores inflamatórios incluídos neste estudo, nomeadamente a PCRus e a MCP-1.

Estudos *in vitro*^{180,181} sugerem que a leptina, tal como a IL-6, tem a capacidade de estimular diretamente a expressão de PCR pelo fígado e que a adiponectina tem um efeito inibidor relativamente à expressão da PCR, conforme demonstrado no estudo de Ouchi e colaboradores¹⁸². Invariavelmente a PCR contribui para o processo inflamatório de baixo grau que caracteriza a obesidade e promove a doença aterosclerótica, pertinente no nosso estudo, tendo em conta que mais do que um terço da população obesa tinha níveis de PCRus superior a 0.3mg/dl, considerado, na população adulta, como marcador de elevado risco de doença aterosclerótica.

Na nossa avaliação entre grupos, a PCRus mostrou estar significativamente mais elevada no grupo obeso, e particularmente nos rapazes, implicitamente sugerindo uma maior predisposição inflamatória neste grupo, situação corroborada pela correlação entre a PCRus e os índices de adiposidade e as adipocinas. Tanto quanto é do nosso conhecimento, este dimorfismo sexual, que implica um risco mais elevado de futura doença cardiovascular em rapazes obesos, ainda não foi relatado na literatura científica, pelo menos em idades pediátricas.

Segundo Panee¹⁸³, os níveis séricos de MCP-1 encontram-se elevados em obesos, incluindo crianças, particularmente se a adiposidade é central. No nosso estudo, na avaliação global, verificámos uma correlação entre o IMC e a MCP-1, mas não com a circunferência abdominal, que mais diretamente representaria a obesidade central. No entanto, no grupo obeso, verificámos correlações diretas e moderadas com o IMC e a circunferência abdominal.

Dos parâmetros analisados, a leptina foi aquele que melhor se correlacionou com a PCRus. Este achado contraria o publicado por outros autores, em que o IMC é considerado o marcador que melhor se correlaciona com a PCRus; contudo, nestes estudos, a leptina não foi incluída na análise¹⁸⁴⁻¹⁸⁷.

Os nossos resultados realçam alguns aspetos importantes relacionados com a adiposidade e o processo inflamatório na nossa população obesa pediátrica: há uma

ligação entre o excesso de tecido adiposo e a ativação de mediadores inflamatórios; o aumento da adiposidade favorece o desenvolvimento de um ambiente metabolicamente pró-inflamatório e pró-aterogénico, confirmado pela relação dos marcadores de adiposidade com a PCRus e a MCP-1; a leptina e a adiponectina, contribuem para a expressão da PCRus; e o género masculino, tal como nos adultos, aparenta ser um grupo de risco para as doenças cardiovasculares^{152,188}.

5. ATIVAÇÃO ENDOTELIAL E MECANISMOS REPARADORES DO ENDOTÉLIO

Tendo como ponto de partida o processo inflamatório patente no nosso grupo de crianças obesas, propusemo-nos correlacionar os marcadores de adiposidade, as adipocinas, a PCRus e a MCP-1, com a ativação endotelial e esta, estando presente, com os mecanismos reparadores do endotélio.

Selecionámos duas substâncias que consideramos representativas da ativação endotelial: a E-selectina, que promove a adesão leucocitária ao endotélio e está precocemente elevada na disfunção endotelial, e a dimetilarginina assimétrica, um inibidor da enzima eNOS e, como tal, marcador indireto da biodisponibilidade do óxido nítrico. Para avaliarmos a resposta reparadora da lesão endotelial, quantificámos o número de células progenitoras endoteliais circulantes.

Nas crianças obesas, os níveis séricos da E-selectina foram significativamente superiores aos do grupo controlo. Relativamente à relação da E-selectina com os marcadores de adiposidade, tal como os achados de Rao^{135,189}, observámos uma correlação direta com o índice de massa corporal e a percentagem de massa gorda. Curiosamente, no nosso estudo, não se evidenciou uma correlação da E-Selectina com a circunferência abdominal (marcador representativo de tecido adiposo abdominal), um achado ilustrado no estudo de Matsumoto e colaboradores¹⁹⁰, mas numa população adulta.

Na avaliação global observámos uma correlação direta entre a E-selectina e a PCRus, sugerindo uma relação entre o processo inflamatório e a ativação endotelial.

Um estudo *in vitro* por Pasceri⁶⁵ comprovou que a proteína C-reativa tinha a capacidade de diretamente estimular o endotélio e, por sua vez, a expressão da E-selectina. Huang e colaboradores¹⁹¹ num estudo realizado em crianças obesas

asmáticas confirmaram esta relação. Não encontramos, no entanto, qualquer estudo que estabelecesse esta correlação em crianças obesas sem outra patologia associada.

Relativamente à MCP-1 não observámos qualquer relação com a E-selectina, ao contrário do estudo desenvolvido por EL-Mesallamy em rapazes obesos diabéticos¹⁹².

Ao avaliarmos estas relações em função do género, evidenciámos que a adiposidade manteve uma correlação direta com a E-selectina em ambos os géneros mas, no grupo de rapazes, também se evidenciou uma relação com o processo inflamatório e as adipocinas (leptina, $p=0.351$; $p=0.008$). Rao¹⁸⁹ demonstrou uma relação direta entre a leptina e a E-selectina num grupo de crianças Indianas, mas não avaliou esta relação em função do género; também não encontramos nenhum estudo, quer em adultos quer em crianças, que estabelecesse uma ligação da E-selectina com a leptina. Já com a adiponectina não estabelecemos qualquer relação com a E-selectina, ao contrário do evidenciado no estudo de El-Mesllamy e colaboradores¹⁹³, composto por um total de 20 crianças, das quais 10 eram obesas; foi observada uma relação direta entre estes parâmetros em doentes com doença coronária e rapazes diabéticos obesos, sugerindo que esta relação, à semelhança do que acontece com a MCP-1, evidencia-se mais em contextos patológicos¹⁹².

Os nossos resultados sugerem que a ativação endotelial, considerada a lesão mais precoce da aterosclerose, se associa à adiposidade e inflamação; manifesta-se precocemente em idades pediátricas, e tem maior representatividade no género masculino.

Constatámos, igualmente, no grupo de crianças obesas, níveis séricos mais elevados de dimetilarginina assimétrica, sugerindo que a síntese de óxido nítrico possa estar potencialmente comprometida nas crianças obesas. Esta relação foi mais evidente no grupo de raparigas, um padrão diferente das outras relações até aqui estabelecidas, onde o género masculino predominou. Contrariamente ao previamente observado, a distribuição regional da gordura não aparenta influenciar esta relação, mas sim a percentagem de massa gorda, superior nas raparigas. Não foi possível comparar esta relação com outros estudos, visto estes não existirem, quer em adultos quer em crianças.

Apesar de não encontrarmos qualquer relação da ADMA com a PCRus ou a MCP-1, a leptina correlacionou-se diretamente com a dimetilarginina assimétrica, um

achado previamente não relatado na literatura, implicando, possivelmente, uma ação direta da leptina na expressão desta enzima e implicitamente, um possível mecanismo entre a adiposidade e a biodisponibilidade do óxido nítrico.

Como publicado por vários autores, na população adulta, o número e a função das células progenitoras endoteliais circulantes, não só se correlacionam inversamente com fatores de risco cardiovascular, como predizem a ocorrência de eventos cardiovasculares^{76,78,85}. Em crianças, encontramos apenas uma publicação, por Jung e colaboradores¹⁵⁸, que relaciona o número de células progenitoras endoteliais circulantes com o excesso de peso. À semelhança do nosso estudo os autores concluíram que o número de células progenitoras endoteliais circulantes é mais elevado em adolescentes com excesso de peso. No entanto, é importante salientar algumas diferenças que julgamos ser pertinentes. No estudo realizado por Jung, a amostra incluiu apenas adolescentes com IMC superior ao P90, enquanto no nosso incluímos crianças obesas, pré e pós-púberes; também não estabeleceram diferenças entre gêneros e, como observamos no nosso estudo, a relação das EPCs com os marcadores de adiposidade confirmou-se apenas no grupo de rapazes. De referir ainda que utilizaram populações CD34+ e CD34- (uma linha celular mais imatura) de EPCs e destas, apenas a sub-população CD34- estava mais elevada. Na nossa análise, a sub-população CD34+ relacionou-se claramente com todos os índices de obesidade; também utilizamos o marcador CD45 para excluir os leucócitos da contagem das EPCs, de forma a evitar falsos positivos, o que o estudo por Jung não utilizou.

Das adipocinas, apenas a leptina, quer na avaliação global, quer em função do género, só no grupo de rapazes, mostrou estar diretamente relacionada com estas células e, como tal, contribuir diretamente e, numa fase precoce da vida, para a expressão das mesmas. Wolk e colaboradores¹⁹⁴ mostraram que as EPCs têm recetores de leptina e a resposta das EPCs à leptina depende dos níveis desta, sendo que, níveis super-fisiológicos inibem esta resposta, sugerindo que, em situações de hiperleptinémia, o número de EPCs está reduzido, achado não confirmado no nosso estudo. Apesar de não termos encontrado uma correlação entre a adiponectina e as EPCs, estudos em modelos animais mostram que esta adipocina se correlaciona com as EPCs^{195,196}, dados ainda não confirmados em modelos humanos com obesidade. Na nossa avaliação, no grupo de rapazes todos os índices de adiposidade se

correlacionaram diretamente com as EPCs, ao contrário das raparigas, onde essa relação estava ausente, facto que pode explicar as diferenças entre géneros relativamente à correlação da leptina com as EPCs.

Relativamente à relação entre os marcadores inflamatórios com as EPCs, evidenciámos uma correlação direta entre a PCRus e a MCP-1 com as EPCs, somente no grupo de rapazes, mais uma vez realçando esta predisposição do género como fator de risco cardiovascular. Em crianças, alguns estudos têm evidenciado a correlação entre a PCR, no sentido inverso, com as EPCs, mas no contexto de outras patologias, tal como, a doença de Kawasaki¹⁹⁷ e patologia renal crónica¹⁹⁸. Não encontramos nenhum estudo que relacionasse estes parâmetros em obesos pediátricos ou adultos.

Consideramos estes resultados extremamente importantes, pois sugerem que a capacidade regenerativa do endotélio se mantém íntegra durante a infância, ou seja, numa fase inicial e reversível da disfunção do endotélio. Por outro lado, identificámos o género masculino com um potencial fator de risco cardiovascular em crianças obesas. Daí todo o interesse em instituir medidas terapêuticas a fim de evitar lesões irreversíveis do endotélio e, posteriormente, doenças cardiovasculares.

Outro achado interessante, foi a correlação direta da E-selectina com o número de células progenitoras endoteliais circulantes e a dimetilarginina assimétrica. No trabalho de Jung¹⁵⁸ foi observada uma correlação direta entre o número de células progenitoras endoteliais circulantes e a E-selectina, em adolescentes obesos, como já referido. No nosso caso, esta correlação evidenciou-se em idades mais jovens, achados não publicados previamente, sugerindo e reforçando o facto da disfunção endotelial ser uma realidade muito precoce em grupos pediátricos de risco. Que seja do nosso conhecimento, também não há nenhum estudo publicado que correlacione a E-selectina com a ADMA.

Os nossos achados realçam a presença de disfunção endotelial em crianças obesas, especificamente a adesão de células inflamatórias ao endotélio e o compromisso da biodisponibilidade do óxido nítrico, traduzido pelo aumento da expressão da E-selectina e da ADMA. Evidenciámos também que o papel das células progenitoras endoteliais circulantes na regeneração do endotélio lesado se mantém preservado.

6. AS COMORBILIDADES

Face à importância das complicações relacionadas com a adiposidade, optámos por caracterizá-las o que abordaremos de seguida:

6.1. Insulino-resistência

A insulino-resistência é a alteração metabólica que mais frequentemente se associa à obesidade, estando fortemente relacionada com a incidência de diabetes *mellitus* tipo 2 e doenças cardiovasculares no adulto^{199,200}; durante a infância, se presente é preditiva da insulino-resistência na vida adulta.

Baseado no índice de insulino-resistência, 38% da nossa população obesa era insulino-resistente (HOMA-IR>3), com predomínio nos rapazes obesos adolescentes.

No nosso estudo, a prevalência de insulino-resistência foi inferior à publicada por alguns autores (50-70%)^{201,202}. Esta discrepância pode ser atribuída aos diferentes pontos de corte do índice de insulino-resistência utilizados para definirem insulino-resistência, dado não existir um valor universal para a definir²⁰³.

Demonstrámos uma evidente correlação direta entre o índice de insulino-resistência e os índices de adiposidade, bem como com a PCRus e, em ambos os casos, mais acentuadamente nos rapazes. Ao contrário de alguns relatos na literatura²⁰⁴, a MCP-1 não se correlacionou com o índice de insulino-resistência. Na avaliação global entre grupos, as adipocinas também se correlacionaram com o índice de insulino-resistência, a leptina diretamente e a adiponectina no sentido inverso.

Também foi do nosso interesse correlacionar os índices de adiposidade, as adipocinas e os marcadores inflamatórios no grupo de crianças insulino-resistentes (dados não apresentados). Todos os marcadores de adiposidade, assim como a leptina, correlacionaram-se diretamente e significativamente com a insulino-resistência. À semelhança do descrito na literatura^{204,205}, a leptina mostrou ter uma associação importante com a insulino-resistência, e, no nosso caso, em ambos os géneros, mas mais expressamente nos rapazes^{205,206}. Já a relação da adiponectina com a insulino-resistência não aparenta ser tão linear, sendo contraditórios os resultados dos estudos feitos^{207,208}. Vários autores defendem que a adiponectina tem um efeito insulino-sensibilizante, e a perda deste efeito benéfico na obesidade relaciona-se com a

insulino-resistência. Tal como nos achados por Lee e colaboradores²⁰⁹, em que a adiponectina é um preditor forte de insulino-resistência num grupo pediátrico multirracial, na nossa análise verificámos correlações significativas, no sentido inverso, entre a adiponectina e o índice de insulino-resistência, mas somente nos rapazes.

Já a relação entre os marcadores inflamatórios e a insulino-resistência aparenta ser mais questionável. À semelhança do estudo de Akinci e colaboradores²¹⁰ demonstrámos uma correlação direta entre a PCR e o índice de insulino-resistência, mas não com a insulino-resistência. Este resultado vai ao encontro do relatado por Moran e colaboradores²¹¹, que também não evidenciaram esta relação. Também não correlacionámos a MCP-1 com a insulino-resistência, resultado corroborado por Chacón e colaboradores²¹² e contrário aos achados por Rull e colaboradores²¹³, ambos os estudos realizados na população adulta. Possivelmente a dimensão da nossa amostra influenciou os resultados, visto termos estabelecido uma relação entre a PCRus e o índice de insulino-resistência, que não se confirmou no grupo de crianças obesas insulino-resistentes, grupo esse com um número inferior de indivíduos (45).

Estes resultados salientam a influência dos vários mecanismos potencialmente envolvidos na génese da insulino-resistência, como é o caso das adipocinas e da PCRus, estando estes, no contexto da obesidade, muito provavelmente interligados. Também à semelhança do observado nos adultos²¹⁴, identificámos o género masculino como um fator de risco para a insulino-resistência, particularmente no que respeita á relação entre os marcadores de adiposidade e a IR.

O recurso à acantose nigricans como marcador da insulino-resistência tem sido controversa. Vários estudos mostram que, face à estreita associação entre a hiperinsulinémia e a acantose nigricans, esta alteração cutânea é um marcador fiável da insulino-resistência²¹⁵⁻²¹⁷. Sendo assim, teria todo o interesse estabelecer-se um valor preditivo para esta relação, visto a diabetes *mellitus* tipo 2 ser uma das complicações mais importantes da obesidade infantil.

Nos adultos obesos, a prevalência da acantose nigricans é de 62%, semelhante à que encontrámos no nosso grupo de crianças obesas, mais frequentemente nos rapazes (70.5%). Na nossa análise, não se estabeleceu uma relação entre a acantose nigricans e a insulino-resistência apesar de cerca de dois terços das crianças insulino-

resistentes apresentarem acantose-nigricans ao exame clínico. Esta observação é consistente com resultados previamente publicados por outros autores²¹⁸.

Consequentemente, baseado nos nossos resultados, a acantose nigricans não deveria ser proposta como marcador de despistagem da diabetes *mellitus* tipo 2, como sugerido por alguns investigadores²¹⁹. No entanto, como sinal clínico, no contexto da obesidade em idade pediátrica, não deve ser ignorado, devendo alertar o clínico para a presença de hiperinsulinismo e, potencialmente, de alterações metabólicas.

Dada a relação entre a adiposidade e a insulino-resistência procurámos obter valores preditivos através de curvas ROC. Na nossa população prevê-se que um IMC > 25.87 tenha uma sensibilidade de 83% e especificidade de 56% relativamente á ocorrência de insulino-resistência na nossa população.

6.2. Hipertensão arterial sistémica (sistólica)

A prevalência da hipertensão arterial sistémica, em idade pediátrica, varia entre 3 a 5 %, sendo a causa mais frequente a do foro reno-vascular^{220,221}. Nas crianças obesas estima-se ser 3 vezes superior às crianças não obesas, especialmente naquelas com obesidade visceral²²².

No grupo obeso, quer a pressão arterial sistólica quer a diastólica, foram significativamente superiores às do grupo controlo. A prevalência de HTA, confirmada por monitorização ambulatoria da pressão arterial ocorreu, em 9.2% da nossa população obesa, e da pré-hipertensão arterial em 26.7%, e, quer uma quer outra, mais frequentes nos rapazes e adolescentes. À semelhança do estudo de Sorof e colaboradores²²² a hipertensão arterial sistólica predominou; aliás, no nosso estudo, não se observaram casos de hipertensão arterial diastólica. Nenhuma das crianças no grupo controlo tinha hipertensão arterial, embora 14.6% fossem pré-hipertensas, evidenciando-se, nestes resultados, a natureza multifactorial da hipertensão arterial em idades pediátricas, mas mais em particular, a relação com a adiposidade.

Todos os índices de adiposidade se correlacionaram com a pré- e hipertensão arterial sistólica, um achado previamente descrito na literatura²²³ e que na nossa análise apenas se verificou no género masculino. Relativamente à relação entre a circunferência abdominal e a hipertensão arterial, na nossa análise esta relação mostrou ter uma sensibilidade de 91% e especificidade de 82% e permitiu estabelecer um ponto de corte de 96.3cm, com aplicações práticas na clínica diária, pelo seu valor preditivo.

A relação entre as adipocinas e a hipertensão arterial tem sido alvo de vários estudos na população adulta. Em idade pediátrica os resultados dos estudos realizados não têm sido consensuais. A leptina tem tido particular relevo neste contexto, mas na literatura não encontramos qualquer referência à população pediátrica europeia. Nishina e colaboradores²²⁴ demonstraram uma correlação direta entre a leptina e a HTA num grupo de crianças obesas japonesas, ao contrário de Chu e colaboradores²²⁵, em que esta relação não foi identificada num grupo de crianças taiwanesas, tal como no nosso estudo. Estudos em modelos animais sugerem que a leptina ativa o sistema nervoso simpático e este pode ser, conseqüentemente, embora não confirmado no

homem, um dos mecanismos que relaciona a leptina com a hipertensão arterial em humanos²²⁴⁻²²⁸.

Das adipocinas, apenas a adiponectina se correlacionou, no grupo de rapazes obesos, com a pré e hipertensão arterial sistólica. Este dado corrobora os resultados de Brambilla e colaboradores²²⁸, em que a hipoadiponectinemia foi proposta como um dos mecanismos que contribuíram para a hipertensão arterial num grupo de crianças italianas obesas, possivelmente pela perda das suas propriedades anti-inflamatórias e anti-aterogênicas^{229,230}. Através da análise da curva de ROC, determinámos o valor preditivo da adiponectina em relação à HTA, que mostrou que utilizando um valor sérico de 3.55 µg/ml como ponto de corte (pela formula de Youden) obtemos uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 53%.

Estudos sugerem que os agentes pró-inflamatórios aparentam estar implicados na génese da hipertensão arterial²³¹. Neste âmbito, a proteína C-reativa tem sido o marcador mais estudado em idades pediátricas^{119,232}. Entre os mecanismos propostos, especula-se que a associação entre a proteína C-reativa e a redução da biodisponibilidade do óxido nítrico endotelial e o aumento da produção de endotelina-1²³³ favoreça a vasoconstrição e consequentemente o aumento da pressão arterial.

Curiosamente, apesar de termos demonstrado uma correlação significativa entre a adiposidade e a PCRus, não verificámos qualquer correlação entre a PCRus e a pressão arterial sistólica e diastólica. No entanto, nos grupos considerados de alto risco para a doença aterosclerótica em que a PCRus é superior a 0.3mg/dl, observámos uma correlação significativa, em ambos os géneros, entre estes parâmetros.

É escassa a informação sobre a relação da MCP-1 com a HTA, mesmo na população adulta. No nosso estudo, os níveis séricos de MCP-1, para além de se correlacionarem com o IMC, também se correlacionaram diretamente com a pressão arterial sistólica, relação não descrita em estudos pediátricos, sugerindo haver uma ligação entre a adiposidade, os mecanismos inflamatórios e os níveis de pressão arterial. Visto a MCP-1 atrair células inflamatórias para a parede do vaso, pode potencialmente condicionar a sua vasorreatividade e, implicitamente, a resposta tensora. Baseado na nossa evidência, e apesar das limitações da nossa amostra, podemos inferir que, na nossa população obesa, a MCP-1, comparativamente à PCRus,

aparenta ser um marcador de risco cardiovascular mais robusto relativamente à pressão arterial sistólica.

6.3. Dislipidémia

A dislipidémia foi um fator de risco cardiovascular que se evidenciou no grupo de crianças obesas. Considerando os critérios propostos pela *National Cholesterol Education Program Expert Panel on Cholesterol Levels in Children*, 20.8% e 10.8% desta população tinha níveis séricos elevados de TG e LDL-C, respectivamente, e 25% tinha uma diminuição dos níveis séricos de HDL-C. O colesterol total não apresentou diferenças significativas entre os dois grupos, daí que, no contexto deste estudo, não ter representatividade como marcador de risco cardiovascular.

Na obesidade infantil, o perfil dislipidémico mais frequente, e que difere do padrão lipídico em crianças não obesas, consiste em níveis elevados de TG, limítrofes de LDL-C e baixos de HDL-C, podendo atingir cerca de 40% da população obesa infantil²³⁴. Apesar da LDL-C estar dentro de valores normais, é a composição das partículas de colesterol de baixa densidade, neste caso as pequenas e mais densas, que conferem, conjuntamente com o restante perfil, características particularmente aterogénicas. Foi este padrão que evidenciámos em 10% da nossa população, muito inferior ao descrito na literatura²³⁵, sendo mais frequente nos rapazes (13.8% vs 6.8% nas raparigas) e na adolescência, sugerindo que ser do sexo masculino, mesmo em idades precoces, pode potencialmente traduzir maior risco cardiovascular.

Esta tendência pró-aterogénica, incluindo o dimorfismo sexual, também se reflete na análise das lipoproteínas plasmáticas, particularmente o rácio Apo B/ApoA-I, que, quanto mais elevado, maior o risco²³⁶. Este rácio é considerado, nos adultos, um importante fator de risco cardiovascular e preditivo de eventos cardíacos, visto refletir o equilíbrio entre partículas pró- e anti-aterogénicas²³⁷: No nosso grupo de crianças obesas encontrava-se significativamente aumentado comparativamente ao do grupo controlo. A única lipoproteína plasmática que não apresentou diferenças significativas entre grupos foi a Lp(a). No estudo desenvolvido por Cunningham e colaboradores²³⁸, a Lp(a) mostrou ser um útil marcador de risco cardiovascular em crianças, achado que não confirmámos na nossa análise, possivelmente devido à população estudada

composta por crianças aborígenes australianas, população portadora de alto risco cardiovascular.

Dos marcadores de adiposidade, o IMC e, particularmente a CABd, foram os que mais concretamente se correlacionaram com os lípidos e as lipoproteínas plasmáticas, sendo que, a correlação mais forte, no sentido inverso, se verificou com a HDL-C. A redução dos níveis séricos de HDL-C é considerada, por alguns autores, um fator independente de risco cardiovascular e, na população adulta, tem uma forte correlação com doença coronária e eventos cardíacos adversos²³⁹. Já outros investigadores consideram o rácio apoB/apoA-I como um marcador de risco cardiovascular superior, particularmente em situações de risco, como é o caso de doentes coronários com normolipidémia. Os estudos AMORIS e INTERHEART mostraram que, em adultos, este rácio apresenta valores preditivos relativamente à probabilidade de enfarte agudo do miocárdio, tendo sido estabelecidos pontos de corte para os diferentes géneros. Um rácio superior a 0.6 para mulheres e 0.7 para homens foram considerados como marcadores de risco moderado para doença coronária²⁴⁰. Extrapolando deste estudo, 14.3% dos rapazes obesos e 38.6% das raparigas obesas apresentavam risco moderado para futura doença coronária.

Não existindo evidência de doença coronária na nossa população obesa, correlacionámos estes marcadores (HDL-C e rácio apoB/apoA-I) com as comorbilidades encontradas neste estudo, nomeadamente a insulino-resistência e a hipertensão arterial sistólica. Observámos uma correlação significativa da HDL-C com a IR e com a HTA sistólica, assim como do rácio apoB/apoA-I que também se relacionou com a IR e HTA sistólica e, em ambos os casos, somente nos rapazes.

Impõem-se a questão, qual destes marcadores melhor traduz risco cardiovascular em idades pediátricas? Baseado no nosso estudo, apesar das diferenças significativas já referidas, as lipoproteínas plasmáticas não oferecem vantagens comparativamente ao perfil lipídico clássico, quer na estratificação de risco quer na abordagem terapêutica das dislipidémia. De facto, a HDL-C sobressai como a lipoproteína que melhor se correlaciona com as comorbilidades da obesidade, reforçando o facto de a perda da sua ação anti-aterogénica ser marcante na patogénese das doenças associadas à obesidade, já manifestadas nestas faixas etárias.

Procurámos também estabelecer a relação entre as adipocinas e os marcadores inflamatórios com a dislipidémia. Rothenbacher e colaboradores²⁴¹ demonstraram, na população adulta, o potencial anti-aterogénico da adiponectina, que favorece o aumento da oxidação de ácidos gordos e a síntese de HDL-C²⁴². Já em crianças obesas, foi demonstrada a importância da adiponectina como biomarcador da síndrome metabólica, em que as alterações lipídicas relacionadas com a diminuição da adiponectina, são um componente chave^{243,244}. Martins e colaboradores²⁴⁵, também numa população adulta, demonstraram a relação direta entre a leptina e os lípidos, mais uma vez no contexto da síndrome metabólica; no entanto, na nossa pesquisa, não encontramos nenhum trabalho que tratasse especificamente a relação entre a adiponectina e a leptina com alterações lipídicas em crianças obesas, nomeadamente com as lipoproteínas plasmáticas, inclusivamente na população portuguesa. Como foi possível verificar pelos resultados da nossa análise global, a adiponectina correlacionou-se essencialmente com a HDL-C e a leptina com o rácio apoB/apoA-I, ilustrando as ações metabólicas do tecido adiposo e as possíveis vias de sinalização que contribuem para a dislipidémia da obesidade em idade pediátrica. Neste contexto, considerando o género, demonstrámos ainda que quer a leptina, quer a adiponectina, mantiveram a mesma correlação com o rácio apoB/apoA-I e a HDL-C, respetivamente, apenas no grupo de rapazes, realçando uma vez mais o género como marcador de risco cardiovascular.

Na nossa revisão da literatura, não encontramos estudos que correlacionassem, simultaneamente marcadores inflamatórios (PCRus e MCP-1), lípidos e lipoproteínas plasmáticas em idade pediátrica. Tal como Wu e colaboradores²⁴⁶, demonstrámos a relação entre o processo inflamatório, através da PCRus, e a dislipidémia em crianças obesas. No nosso trabalho, verificámos ainda uma correlação da PCRus com o perfil lipídico, mais acentuadamente com o rácio apoB/apoA-I, nos rapazes parâmetros que não foram analisados por aqueles investigadores. Hiura e colaboradores¹¹⁹ evidenciaram a relação entre a PCR e o perfil lipídico (incluindo a apoB) num grupo de rapazes obesos mas, ao contrário do nosso estudo, não realizou um estudo comparativo entre géneros. Apesar de termos demonstrado uma correlação entre a adiposidade e a MCP-1, não estabelecemos, neste mesmo grupo, uma correlação entre este marcador inflamatório e o perfil lipídico. Tal como nós, Breslin e

colaboradores¹³² demonstraram aumento dos níveis de MCP-1, assim como alterações do perfil lipídico, num grupo de crianças hispânicas; no entanto, não estabeleceram correlações entre estes parâmetros. Desta forma, consideramos a PCRus um marcador mais sensível neste contexto.

Dada a relação entre a adiposidade e a dislipidemia procurámos obter valores preditivos através de curvas ROC para a HDL-C, <40mg/dl, LDL-C >130mg/ml e TG > 110mg/ml. Para a HDL-C a %MG (30.5%) apresentou uma sensibilidade de 87%, para a LDL-C a %MG (30.35%) apresentou uma sensibilidade de 80% e para os TG, a Cabd (83.50) apresentou uma sensibilidade de 84%.

Esta análise realça aspetos de extrema importância no âmbito da obesidade infantil. Comprovámos, nesta amostra de crianças obesas portuguesas, a relação entre a adiposidade e as alterações lipídicas, tendo como base mecanismos pró-inflamatórios. Demonstrámos, igualmente, a presença de um perfil lipídico agressivo com considerável risco pró-aterogénico, não só pela diminuição protetora dos níveis séricos de HDL-C mas, também, pelo aumento no número de partículas de LDL de baixa densidade, representadas pelo rácio apoB/apoA-I, sendo estas alterações claramente manifestas no género masculino, independentemente da faixa etária, identificando-se assim um grupo de risco.

6.4. Síndrome metabólica

Conforme recomendado pela *International Diabetes Federation* (IFD), a síndrome metabólica (Smet) não deve ser diagnosticada abaixo dos 10 anos de idade²⁴⁷. A prevalência da Smet é variável²⁴⁸. Baseado nos critérios da IFD, entre os 10 e 16 anos de idade, não identificámos crianças obesas com Smet. A partir dos 16 anos de idade, 6.7% da nossa população apresentava critérios para Smet com uma incidência inferior à descrita por Friend e colaboradores²⁴⁹ na sua meta-análise (29.2%), em que também identificaram o género masculino (62.5%) e a adolescência como fatores de risco.

A associação de parâmetros que define a síndrome metabólica permite identificar um grupo de crianças com elevado risco de virem a desenvolver doenças cardiovasculares e diabetes *mellitus* tipo 2.

6.5. Hipertrofia ventricular esquerda e geometria ventricular

Na população adulta, a hipertrofia ventricular esquerda associa-se a eventos cardíacos adversos. Definimos hipertrofia ventricular esquerda (HVE) em função da massa ventricular esquerda indexada à estatura^{2,7}, presente em 31.7% da nossa amostra, com uma correlação direta com os índices de adiposidade e independente da pressão arterial, mesmo no grupo de crianças hipertensas, achados que vão ao encontro do relatado na literatura^{250,251}. Nos adultos, um IMVE > 55g/m^{2,7} define mau prognóstico cardiovascular, limiar que observamos em 1.7% da nossa população obesa que, apesar de refletir uma prevalência baixa, é um achado que consideramos significativo pela faixa etária e pelas implicações clínicas em questão.

Para além de definir HVE, caracterizámos também a geometria ventricular esquerda da nossa população obesa, pelas suas implicações prognósticas, aferida através do IMVE e da ERP. Em termos hemodinâmicos, devido à sobrecarga de volume imposta cronicamente pelo aumento do tecido adiposo, a obesidade caracteriza-se por um aumento do diâmetro telediastólico do ventrículo esquerdo e, implicitamente, dilatação desta cavidade, podendo condicionar alterações da função diastólica e hipertrofia excêntrica do VE^{252,253}.

No nosso estudo, todos os diâmetros do VE foram significativamente mais elevados no grupo obeso e, de todos, o que mais fortemente se correlacionou com os índices da adiposidade (IMC e CA_{abd}) foi o DDVE. Apesar desta relação, não se observaram alterações funcionais do VE, quer sistólicas quer diastólicas. A geometria ventricular esquerda encontrava-se alterada em 40% da nossa população obesa sendo a mais frequente a hipertrofia ventricular excêntrica (21.7%), indo ao encontro dos achados na literatura, seguido de hipertrofia ventricular esquerda concêntrica em 10% e remodelação cardíaca em 8%. A remodelação cardíaca, apesar de ser uma alteração mais subtil pois não cursa com o aumento do IMVE, mas sim com a ERP, também se associa, nos adultos, a eventos cardíacos adversos. Esta associação não é tão vincada como as que ocorrem com as restantes alterações mas, em idades pediátricas, pode constituir um importante indicador das alterações morfológicas cardíacas associadas à obesidade²⁵⁴. Conforme reportado por Alp e colaboradores²⁵⁵, seria de esperar que, nas crianças obesas com HVE concêntrica, existisse uma relação com a HTA, devido ao aumento da pós-carga nesta situação. Não confirmámos isso no nosso estudo,

implicando que outros mecanismos, para além da sobrecarga de volume, condicionam a geometria ventricular.

Como referido, possivelmente existem vários mecanismos responsáveis pelas alterações cardíacas supracitadas. Neste encadeamento, investigámos a relação das adipocinas e os marcadores inflamatórios com os diâmetros diastólicos e a geometria ventricular.

Os estudos que correlacionam as adipocinas com a massa ventricular esquerda foram realizados essencialmente na população adulta; a maioria aborda a relação da leptina com a massa ventricular esquerda, concluindo que existe uma correlação direta com a MVE e o IMVE, possivelmente através da sua ação simpaticomimética^{256,257}. A relação da adiponectina com a MVE está menos estudada. Bidulescu e colaboradores²⁵⁸, estabeleceram uma relação inversa entre a adiponectina e a MVE numa população de adultos americanos negros hipertensos e insulino-resistentes. Ao contrário deste estudo, demonstrámos que apenas a leptina se correlacionou com o IMVE. Evidenciámos também que, no sub-grupo de crianças com hipertrofia ventricular esquerda, a leptina e, somente no grupo de rapazes ($p=0.019$), se associava a esta alteração.

Estas observações indicam que a hiperleptinémia contribui para a remodelação cardíaca que ocorre na obesidade em idades precoces, e particularmente no grupo de rapazes, dados previamente não reportados.

Sendo que o processo inflamatório contribui para as comorbilidades que mais frequentemente se associam à adiposidade em idade pediátrica, foi nosso propósito determinar a relação entre os marcadores inflamatórios e a hipertrofia ventricular esquerda. Na população adulta, poucos estudos têm relacionado a PCR e a MCP-1 com a MVE^{259,260}. Na população pediátrica, tanto quanto sabemos, não existem trabalhos realizados neste sentido. Na nossa análise, evidenciámos, ao contrário da MCP-1, uma correlação direta da PCRus com o IMVE. Estes resultados sugerem que a PCRus contribui para as alterações morfológicas e a disfunção cardíaca da obesidade, que alguns autores referem como miocardiopatia da obesidade^{261,262}. Embora as manifestações clínicas desta entidade sejam tardias e pautadas pela disfunção diastólica do VE, os mecanismos subjacentes a estas alterações já se encontram patentes durante a infância.

6.6. Alterações vasculares: a espessura da camada intima-média da artéria carótida comum

Na obesidade, a aterogenicidade induzida pela insulino-resistência, dislipidemia e hipertensão arterial condiciona alterações vasculares que podem ser potencialmente quantificadas de forma não-invasiva, através da avaliação ecográfica da espessura da camada intima-média da artéria carótica comum (cIMT). Este parâmetro, nem sempre consensual, tem sido proposto por vários autores como um marcador de risco cardiovascular²⁶³.

No âmbito deste estudo, foi nosso propósito validar a utilidade deste exame como marcador de risco cardiovascular numa fase pré-clínica da aterosclerose. Ao contrário dos achados por Tounian e colaboradores²⁶⁴, encontramos, logo à partida, diferenças entre os dois grupos, em que no grupo obeso, o cIMT foi significativamente superior ao do grupo controlo, independentemente da faixa etária ou género. O facto destas diferenças existirem numa fase pré-puberal, implica que, precocemente e ainda numa fase sem tradução clínica, possa existir compromisso vascular. Salienta-se também o facto de o cIMT ser superior nos rapazes obesos.

Dos marcadores de adiposidade, a circunferência abdominal foi o que mais se correlacionou com o cIMT, reforçando achados previamente descritos por Fang e colaboradores²⁶⁵, e salientando a importância da gordura abdominal na patogénese vascular que se associa à obesidade²⁶⁶.

Baseado na revisão da literatura, a relação entre as adipocinas com o cIMT nem sempre é consensual. Comparámos a influência das adipocinas na cIMT e apenas a leptina se correlacionou com a cIMT, no grupo das raparigas. Esta relação evidenciada no nosso estudo vai ao encontro de resultados previamente publicados, quer em adultos²⁶⁷, quer em adolescentes²⁶⁸. A adiponectina, ao contrário dos achados de Gardener e colaboradores²⁶⁹ numa população adulta (idade média 66 anos), não apresentou uma relação significativa com o cIMT. Alguns autores defendem que o rácio leptina/adiponectina tem uma melhor correlação com o cIMT²⁷⁰. Testámos essa hipótese e, apesar de verificarmos uma correlação direta mas fraca com o cIMT ($p=0.161$; $p=0.036$), que se perdeu após ajuste à idade, concluímos que não traz vantagens em relação ao nível sérico da leptina.

Como temos relatado ao longo deste trabalho, o processo inflamatório é um componente fulcral na patogênese da obesidade e seria de esperar uma correlação entre os marcadores inflamatórios e o cIMT, que representaria as alterações vasculares consequentes aos mecanismos inflamatórios. Não foi esse o caso. Tanto a PCRus como a MCP-1 não se correlacionaram com o cIMT, ao contrário do estudo de Sardo e colaboradores²⁷¹ que evidenciou uma relação entre a MCP-1 com o cIMT em hipertensos adultos. Não encontramos nenhum trabalho na área da pediatria que explorasse esta relação no contexto da obesidade.

Avaliámos, igualmente, a relação entre o cIMT e o índice de insulino-resistência, a pressão arterial e o perfil lipídico. Evidenciámos que a pressão arterial sistólica ($r=0.247$; $p=0.002$) e diastólica ($p=0.190$; $p=0.016$), em particular se a pressão arterial sistólica ($p=0.009$) for superior a 120mmHg (pré-hipertensão arterial em qualquer idade pediátrica a partir da adolescência), se relacionava significativamente com o cIMT. Dos lípidos, a única relação obtida foi com a HDL-C, no sentido inverso, e não encontramos qualquer relação com o índice de insulino-resistência.

Estes resultados permitem concluir que, na nossa população pediátrica obesa, a adiposidade, particularmente a visceral, relaciona-se diretamente com o cIMT, sendo a relação com as adipocinas e os marcadores inflamatórios menos persuasiva. Teria todo o interesse um estudo prospetivo, mais alargado, a fim de definirmos pontos de corte através dos quais pudéssemos aferir risco.

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

Este estudo, que incorpora uma amostra da população portuguesa pediátrica obesa, que consideramos representativa da Região Centro de Portugal, e em que dados relativos ao risco cardiovascular são inexistentes, ou pelo menos não se encontram publicados, alerta-nos para um importante problema de saúde pública com potenciais repercussões de médio a longo prazo.

Considerando o principal objetivo que propusemos explorar neste trabalho demonstrámos, através de uma análise comparativa entre um grupo de crianças obesas e outro de crianças com índice de massa corporal normal, e independentemente do peso à nascença ou do ressalto adipocitário, a existência de alterações, quer analíticas quer morfológicas, compatíveis com a disfunção do adipócito e do endotélio, alterações claramente relacionadas com a adiposidade. Mais ainda, estas alterações manifestam-se precocemente, evidenciado na análise do grupo de pré-adolescentes, com um evidente dimorfismo sexual, onde identificámos o género masculino como um grupo de maior risco cardiovascular.

Correlacionámos e estabelecemos a ligação entre os índices de adiposidade, em particular o índice de massa corporal e a circunferência abdominal, as adipocinas, os marcadores inflamatórios e a ativação endotelial. Das adipocinas, a leptina foi a que melhor se correlacionou com os marcadores inflamatórios, particularmente com a proteína-C reativa ultra-sensível e com os marcadores da disfunção do endotélio. Por si, a proteína C-reativa ultra-sensível também se correlacionou com os marcadores da disfunção do endotélio, especificamente a E-selectina. Implicitamente quer a leptina, quer a proteína C-reativa ultra-sensível, no contexto da adiposidade, contribuem para a diminuição da biodisponibilidade do óxido nítrico e como tal, na prática clínica, poderão ser marcadores uteis na estratificação de risco cardiovascular em idade pediátrica. Estabelecemos também estas correlações em função do género, em que o género masculino, como já se tinha observado na análise comparativa entre grupos, demonstrou ser um grupo de maior risco.

Mediante estas alterações, foi do nosso interesse estabelecer a relação entre a disfunção endotelial e os mecanismos reparadores do endotélio através do número de células progenitoras circulantes. Ao contrário do referido na literatura, o número destas células encontrava-se elevado. Podemos, assim, aferir que durante a infância,

em grupos de risco com evidência de disfunção endotelial, existe uma resposta reparadora em curso. A conjunção destes dados realçam a importância de uma abordagem precoce, isto é, a lesão pré-aterosclerótica é uma realidade em crianças obesas, mas nesta fase aparenta ser potencialmente reversível se forem tomadas medidas atempadas a fim de controlar o excesso de peso.

Não só estabelecemos a relação entre a adiposidade e o processo inflamatório com a disfunção endotelial, como avaliámos também, a relação destes parâmetros com as comorbilidades associadas à obesidade. Foi claro que, na nossa população, a prevalência de hipertensão arterial, insulino-resistência, dislipidémia e hipertrofia ventricular esquerda foi consideravelmente superior ao do grupo controlo, estabelecendo assim, no nosso estudo, uma relação analítico-clínica.

Perante estes dados, estabelecemos, para a nossa população, pontes de corte entre os índices de adiposidade e as referidas comorbilidades que, apesar das limitações da amostra, poderão ser instrumentos de estratificação na prática clínica.

Este estudo apresenta algumas limitações, nomeadamente o número da amostra, quer do grupo obeso quer do grupo controlo, e as características da população em estudo, composta apenas por crianças caucasianas e apenas de uma região do país.

Contudo e considerando a prevalência de obesidade infantil na nossa população, não será de estranhar que muitas das doenças que iremos tratar no futuro, algumas já manifestas em idades pediátricas, serão relacionadas com a obesidade, daí a necessidade de abordar esta entidade de forma criteriosa, atempadamente e idealmente por equipas multidisciplinares.

CAPÍTULO 6

REFERÊNCIAS

1. Ezquerro EA, Vazquez JM, Barrero AA. Obesity, metabolic syndrome, and diabetes: Cardiovascular implications and therapy. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2008;61:752-764
2. Gomes F, Telo DF, Souza HP, Nicolau JC, Halpern A, Serrano CV, Jr. [obesity and coronary artery disease: Role of vascular inflammation]. *Arq Bras Cardiol*. 2010;94:255-261, 273-259, 260-256
3. Slyper AH. The pediatric obesity epidemic: Causes and controversies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2540-2547
4. Sweeting HN. Measurement and definitions of obesity in childhood and adolescence: A field guide for the uninitiated. *Nutr J*. 2007;6:32
5. Stevens J, Cai J, Pamuk ER, Williamson DF, Thun MJ, Wood JL. The effect of age on the association between body-mass index and mortality. *N Engl J Med*. 1998;338:1-7
6. Gray DS, Fujioka K. Use of relative weight and body mass index for the determination of adiposity. *J Clin Epidemiol*. 1991;44:545-550
7. Bessesen DH. Update on obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:2027-2034
8. Antunes A, Moreira P. [prevalence of overweight and obesity in portuguese children and adolescents]. *Acta Med Port*. 2011;24:279-284
9. Farooqi S, O'Rahilly S. Genetics of obesity in humans. *Endocr Rev*. 2006;27:710-718
10. Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, Inouye M, Freathy RM, Attwood AP, Beckmann JS, Berndt SI, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Bergmann S, Bennett AJ, Bingham SA, Bochud M, Brown M, Cauchi S,

Connell JM, Cooper C, Smith GD, Day I, Dina C, De S, Dermitzakis ET, Doney AS, Elliott KS, Elliott P, Evans DM, Sadaf Farooqi I, Froguel P, Ghorji J, Groves CJ, Gwilliam R, Hadley D, Hall AS, Hattersley AT, Hebebrand J, Heid IM, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Herrera B, Hinney A, Hunt SE, Jarvelin MR, Johnson T, Jolley JD, Karpe F, Keniry A, Khaw KT, Luben RN, Mangino M, Marchini J, McArdle WL, McGinnis R, Meyre D, Munroe PB, Morris AD, Ness AR, Neville MJ, Nica AC, Ong KK, O'Rahilly S, Owen KR, Palmer CN, Papadakis K, Potter S, Pouta A, Qi L, Randall JC, Rayner NW, Ring SM, Sandhu MS, Scherag A, Sims MA, Song K, Soranzo N, Speliotes EK, Syddall HE, Teichmann SA, Timpson NJ, Tobias JH, Uda M, Vogel CI, Wallace C, Waterworth DM, Weedon MN, Willer CJ, Wraight, Yuan X, Zeggini E, Hirschhorn JN, Strachan DP, Ouwehand WH, Caulfield MJ, Samani NJ, Frayling TM, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Deloukas P, McCarthy MI, Wareham NJ, Barroso I, Kraft P, Hankinson SE, Hunter DJ, Hu FB, Lyon HN, Voight BF, Ridderstrale M, Groop L, Scheet P, Sanna S, Abecasis GR, Albai G, Nagaraja R, Schlessinger D, Jackson AU, Tuomilehto J, Collins FS, Boehnke M, Mohlke KL. Common variants near *mc4r* are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet.* 2008;40:768-775

11. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. A

- common variant in the *fto* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007;316:889-894
12. Gulati P, Cheung MK, Antrobus R, Church CD, Harding HP, Tung YC, Rimmington D, Ma M, Ron D, Lehner PJ, Ashcroft FM, Cox RD, Coll AP, O'Rahilly S, Yeo GS. Role for the obesity-related *fto* gene in the cellular sensing of amino acids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:2557-2562
 13. Dwivedi OP, Tabassum R, Chauhan G, Ghosh S, Marwaha RK, Tandon N, Bharadwaj D. Common variants of *fto* are associated with childhood obesity in a cross-sectional study of 3,126 urban indian children. *PLoS One*. 2012;7:e47772
 14. Fox CS, Liu Y, White CC, Feitosa M, Smith AV, Heard-Costa N, Lohman K, Johnson AD, Foster MC, Greenawalt DM, Griffin P, Ding J, Newman AB, Tylavsky F, Miljkovic I, Kritchevsky SB, Launer L, Garcia M, Eiriksdottir G, Carr JJ, Gudnason V, Harris TB, Cupples LA, Borecki IB. Genome-wide association for abdominal subcutaneous and visceral adipose reveals a novel locus for visceral fat in women. *PLoS Genet*. 2012;8:e1002695
 15. Bouchard C. Genetic determinants of regional fat distribution. *Hum Reprod*. 1997;12 Suppl 1:1-5
 16. Bremer AA, Auinger P, Byrd RS. Relationship between insulin resistance-associated metabolic parameters and anthropometric measurements with sugar-sweetened beverage intake and physical activity levels in us adolescents: Findings from the 1999-2004 national health and nutrition examination survey. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2009;163:328-335

17. Kaur H, Choi WS, Mayo MS, Harris KJ. Duration of television watching is associated with increased body mass index. *J Pediatr.* 2003;143:506-511
18. Hu FB, Li TY, Colditz GA, Willett WC, Manson JE. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 diabetes *mellitus* in women. *JAMA.* 2003;289:1785-1791
19. Power C, Jefferis BJ. Fetal environment and subsequent obesity: A study of maternal smoking. *Int J Epidemiol.* 2002;31:413-419
20. Silverman BL, Rizzo TA, Cho NH, Metzger BE. Long-term effects of the intrauterine environment. The northwestern university diabetes in pregnancy center. *Diabetes Care.* 1998;21 Suppl 2:B142-149
21. Yu ZB, Han SP, Zhu GZ, Zhu C, Wang XJ, Cao XG, Guo XR. Birth weight and subsequent risk of obesity: A systematic review and meta-analysis. *Obes Rev.* 2011;12:525-542
22. Huxley R, Owen CG, Whincup PH, Cook DG, Rich-Edwards J, Smith GD, Collins R. Is birth weight a risk factor for ischemic heart disease in later life? *Am J Clin Nutr.* 2007;85:1244-1250
23. Skilton MR. Intrauterine risk factors for precocious atherosclerosis. *Pediatrics.* 2008;121:570-574
24. Chiavaroli V, Giannini C, D'Adamo E, de Giorgis T, Chiarelli F, Mohn A. Insulin resistance and oxidative stress in children born small and large for gestational age. *Pediatrics.* 2009;124:695-702
25. Gillman MW, Rifas-Shiman SL, Camargo CA, Jr., Berkey CS, Frazier AL, Rockett HR, Field AE, Colditz GA. Risk of overweight among adolescents who were breastfed as infants. *JAMA.* 2001;285:2461-2467

26. Whitaker RC, Pepe MS, Wright JA, Seidel KD, Dietz WH. Early adiposity rebound and the risk of adult obesity. *Pediatrics*. 1998;101:E5
27. Rolland-Cachera MF, Deheeger M, Maillot M, Bellisle F. Early adiposity rebound: Causes and consequences for obesity in children and adults. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30 Suppl 4:S11-17
28. Mantzoros CS, Rifas-Shiman SL, Williams CJ, Fagnoli JL, Kelesidis T, Gillman MW. Cord blood leptin and adiponectin as predictors of adiposity in children at 3 years of age: A prospective cohort study. *Pediatrics*. 2009;123:682-689
29. Speiser PW, Rudolf MC, Anhalt H, Camacho-Hubner C, Chiarelli F, Eliakim A, Freemark M, Gruters A, HersHKovitz E, Iughetti L, Krude H, Latzer Y, Lustig RH, Pescovitz OH, Pinhas-Hamiel O, Rogol AD, Shalitin S, Sultan C, Stein D, Vardi P, Werther GA, Zadik Z, Zuckerman-Levin N, Hochberg Z. Childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:1871-1887
30. Guo SS, Roche AF, Chumlea WC, Gardner JD, Siervogel RM. The predictive value of childhood body mass index values for overweight at age 35 y. *Am J Clin Nutr*. 1994;59:810-819
31. Parsons TJ, Power C, Logan S, Summerbell CD. Childhood predictors of adult obesity: A systematic review. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999;23 Suppl 8:S1-107
32. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2548-2556
33. Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2005;96:939-949

34. Szasz T, Webb RC. Perivascular adipose tissue: More than just structural support. *Clin Sci (Lond)*. 2012;122:1-12
35. Szasz T, Bomfim GF, Webb RC. The influence of perivascular adipose tissue on vascular homeostasis. *Vasc Health Risk Manag*. 2013;9:105-116
36. Verhagen SN, Visseren FL. Perivascular adipose tissue as a cause of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2011;214:3-10
37. Ramalho R, Guimaraes C. [the role of adipose tissue and macrophages in chronic inflammation associated with obesity: Clinical implications]. *Acta Med Port*. 2008;21:489-496
38. Trayhurn P, Wang B, Wood IS. Hypoxia in adipose tissue: A basis for the dysregulation of tissue function in obesity? *Br J Nutr*. 2008;100:227-235
39. de Ferranti S, Mozaffarian D. The perfect storm: Obesity, adipocyte dysfunction, and metabolic consequences. *Clin Chem*. 2008;54:945-955
40. Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:S64-73
41. Lumeng CN, DelProposto JB, Westcott DJ, Saltiel AR. Phenotypic switching of adipose tissue macrophages with obesity is generated by spatiotemporal differences in macrophage subtypes. *Diabetes*. 2008;57:3239-3246
42. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007;117:175-184
43. Kamei N, Tobe K, Suzuki R, Ohsugi M, Watanabe T, Kubota N, Ohtsuka-Kowatari N, Kumagai K, Sakamoto K, Kobayashi M, Yamauchi T, Ueki K, Oishi Y, Nishimura S, Manabe I, Hashimoto H, Ohnishi Y, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Nagai R, Kadowaki T. Overexpression of monocyte

- chemoattractant protein-1 in adipose tissues causes macrophage recruitment and insulin resistance. *J Biol Chem*. 2006;281:26602-26614
44. Schulman IH, Zhou MS. Vascular insulin resistance: A potential link between cardiovascular and metabolic diseases. *Curr Hypertens Rep*. 2009;11:48-55
 45. Potenza MA, Addabbo F, Montagnani M. Vascular actions of insulin with implications for endothelial dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;297:E568-577
 46. Del Turco S, Gaggini M, Daniele G, Basta G, Folli F, Sicari R, Gastaldelli A. Insulin resistance and endothelial dysfunction: A mutual relationship in cardiometabolic risk. *Curr Pharm Des*. 2013;19:2420-2431
 47. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: A review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26:1407-1433
 48. Anubhuti, Arora S. Leptin and its metabolic interactions: An update. *Diabetes Obes Metab*. 2008;10:973-993
 49. Meyers JA, Liu AY, McTiernan A, Wener MH, Wood B, Weigle DS, Sorensen B, Chen-Levy Z, Yasui Y, Boynton A, Potter JD, Ulrich CM. Serum leptin concentrations and markers of immune function in overweight or obese postmenopausal women. *J Endocrinol*. 2008;199:51-60
 50. Sousa M, Bras-Silva C, Leite-Moreira A. [the role of leptin in the regulation of energy balance]. *Acta Med Port*. 2009;22:291-298
 51. Szmítko PE, Teoh H, Stewart DJ, Verma S. Adiponectin and cardiovascular disease: State of the art? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292:H1655-1663
 52. Shibata R, Ouchi N, Ito M, Kihara S, Shiojima I, Pimentel DR, Kumada M, Sato K, Schiekofer S, Ohashi K, Funahashi T, Colucci WS, Walsh K. Adiponectin-

- mediated modulation of hypertrophic signals in the heart. *Nat Med.* 2004;10:1384-1389
53. Aprahamian TR, Sam F. Adiponectin in cardiovascular inflammation and obesity. *Int J Inflamm.* 2011;2011:376909
54. Okamoto Y. Adiponectin provides cardiovascular protection in metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract.* 2011;2011:313179
55. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial nf-kappab signaling through a camp-dependent pathway. *Circulation.* 2000;102:1296-1301
56. Kobashi C, Urakaze M, Kishida M, Kibayashi E, Kobayashi H, Kihara S, Funahashi T, Takata M, Temaru R, Sato A, Yamazaki K, Nakamura N, Kobayashi M. Adiponectin inhibits endothelial synthesis of interleukin-8. *Circ Res.* 2005;97:1245-1252
57. Ouedraogo R, Gong Y, Berzins B, Wu X, Mahadev K, Hough K, Chan L, Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin deficiency increases leukocyte-endothelium interactions via upregulation of endothelial cell adhesion molecules in vivo. *J Clin Invest.* 2007;117:1718-1726
58. Shimabukuro M, Higa N, Asahi T, Oshiro Y, Takasu N, Tagawa T, Ueda S, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y. Hypoadiponectinemia is closely linked to endothelial dysfunction in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:3236-3240
59. Dandona P, Aljada A, Chaudhuri A, Mohanty P. Endothelial dysfunction, inflammation and diabetes. *Rev Endocr Metab Disord.* 2004;5:189-197

60. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115:1285-1295
61. Bahia L, de Aguiar LG, Villela NR, Bottino D, Bouskela E. [the endothelium in the metabolic syndrome]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2006;50:291-303
62. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation*. 2002;105:546-549
63. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, 3rd, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The bogalusa heart study. *N Engl J Med*. 1998;338:1650-1656
64. Montero D, Walther G, Perez-Martin A, Roche E, Vinet A. Endothelial dysfunction, inflammation, and oxidative stress in obese children and adolescents: Markers and effect of lifestyle intervention. *Obes Rev*. 2012;13:441-455
65. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of c-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000;102:2165-2168
66. Kapiotis S, Holzer G, Schaller G, Haumer M, Widhalm H, Weghuber D, Jilma B, Roggla G, Wolzt M, Widhalm K, Wagner OF. A proinflammatory state is detectable in obese children and is accompanied by functional and morphological vascular changes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:2541-2546
67. Avogaro A, de Kreutzenberg SV. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. *Clin Chim Acta*. 2005;360:9-26

68. Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part i. *Circulation*. 2003;108:1917-1923
69. Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes *mellitus*. *JAMA*. 2004;291:1978-1986
70. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM, Jr., Boerwinkle E. Circulating adhesion molecules vcam-1, icam-1, and e-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: The atherosclerosis risk in communities (aric) study. *Circulation*. 1997;96:4219-4225
71. Ridker PM, Brown NJ, Vaughan DE, Harrison DG, Mehta JL. Established and emerging plasma biomarkers in the prediction of first atherothrombotic events. *Circulation*. 2004;109:IV6-19
72. Harrington EO, Stefanec T, Newton J, Rounds S. Release of soluble e-selectin from activated endothelial cells upon apoptosis. *Lung*. 2006;184:259-266
73. Salgado Filho W, Martinez Filho EE, Horta P, Lemos PA, Migueletto BC, Serrano CV, Jr., Ramires JA, Martinez TL. [intracoronary inflammatory markers after percutaneous coronary interventions]. *Arq Bras Cardiol*. 2005;85:180-185
74. Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: Mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1185-1189
75. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, Kalka C, Gagne PJ, Jacobowitz GR, Levine JP, Gurtner GC. Human endothelial progenitor cells from type ii diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*. 2002;106:2781-2786

76. Muller-Ehmsen J, Braun D, Schneider T, Pfister R, Worm N, Wielckens K, Scheid C, Frommolt P, Flesch M. Decreased number of circulating progenitor cells in obesity: Beneficial effects of weight reduction. *Eur Heart J*. 2008;29:1560-1568
77. Werner N, Kosiol S, Schiegl T, Ahlers P, Walenta K, Link A, Bohm M, Nickenig G. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2005;353:999-1007
78. Hill JM, Zalos G, Halcox JP, Schenke WH, Waclawiw MA, Quyyumi AA, Finkel T. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003;348:593-600
79. Schmidt-Lucke C, Rossig L, Fichtlscherer S, Vasa M, Britten M, Kamper U, Dimmeler S, Zeiher AM. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: Proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair. *Circulation*. 2005;111:2981-2987
80. Sen S, McDonald SP, Coates PT, Bonder CS. Endothelial progenitor cells: Novel biomarker and promising cell therapy for cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2011;120:263-283
81. Guthrie SM, Curtis LM, Mames RN, Simon GG, Grant MB, Scott EW. The nitric oxide pathway modulates hemangioblast activity of adult hematopoietic stem cells. *Blood*. 2005;105:1916-1922
82. Murohara T, Witzenbichler B, Spyridopoulos I, Asahara T, Ding B, Sullivan A, Losordo DW, Isner JM. Role of endothelial nitric oxide synthase in endothelial cell migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:1156-1161
83. Murphy C, Kanaganayagam GS, Jiang B, Chowienczyk PJ, Zbinden R, Saha M, Rahman S, Shah AM, Marber MS, Kearney MT. Vascular dysfunction and

- reduced circulating endothelial progenitor cells in young healthy uk south asian men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:936-942
84. Lin CP, Lin FY, Huang PH, Chen YL, Chen WC, Chen HY, Huang YC, Liao WL, Huang HC, Liu PL, Chen YH. Endothelial progenitor cell dysfunction in cardiovascular diseases: Role of reactive oxygen species and inflammation. *Biomed Res Int.* 2013;2013:845037
85. Tsai TH, Chai HT, Sun CK, Yen CH, Leu S, Chen YL, Chung SY, Ko SF, Chang HW, Wu CJ, Yip HK. Obesity suppresses circulating level and function of endothelial progenitor cells and heart function. *J Transl Med.* 2012;10:137
86. Verma S, Kuliszewski MA, Li SH, Szmítko PE, Zucco L, Wang CH, Badiwala MV, Mickle DA, Weisel RD, Fedak PW, Stewart DJ, Kutryk MJ. C-reactive protein attenuates endothelial progenitor cell survival, differentiation, and function: Further evidence of a mechanistic link between c-reactive protein and cardiovascular disease. *Circulation.* 2004;109:2058-2067
87. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, Lerman A, Mancina G, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Schiffrin EL, Taddei S, Webb DJ. Endothelial function and dysfunction. Part i: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: A statement by the working group on endothelin and endothelial factors of the european society of hypertension. *J Hypertens.* 2005;23:7-17
88. Ribeiro F, Alves AJ, Teixeira M, Ribeiro V, Duarte JA, Oliveira J. Endothelial function and atherosclerosis: Circulatory markers with clinical usefulness. *Rev Port Cardiol.* 2009;28:1121-1151

89. Kasprzak JD, Klosinska M, Drozd J. Clinical aspects of assessment of endothelial function. *Pharmacol Rep.* 2006;58 Suppl:33-40
90. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:1149-1160
91. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, Csiba L, Desvarieux M, Ebrahim S, Fatar M, Hernandez Hernandez R, Jaff M, Kownator S, Prati P, Rundek T, Sitzer M, Schminke U, Tardif JC, Taylor A, Vicaut E, Woo KS, Zannad F, Zureik M. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the advisory board of the 3rd and 4th watching the risk symposium, 13th and 15th european stroke conferences, mannheim, germany, 2004, and brussels, belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis.* 2007;23:75-80
92. Schiel R, Beltschikow W, Radon S, Kramer G, Perenthaler T, Stein G. Increased carotid intima-media thickness and associations with cardiovascular risk factors in obese and overweight children and adolescents. *Eur J Med Res.* 2007;12:503-508
93. Huang K, Zou CC, Yang XZ, Chen XQ, Liang L. Carotid intima-media thickness and serum endothelial marker levels in obese children with metabolic syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2010;164:846-851
94. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: A systematic review and meta-analysis. *Circulation.* 2007;115:459-467
95. Aggoun Y. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Pediatr Res.* 2007;61:653-659

96. Woo KS, Chook P, Yu CW, Sung RY, Qiao M, Leung SS, Lam CW, Metreweli C, Celermajer DS. Overweight in children is associated with arterial endothelial dysfunction and intima-media thickening. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28:852-857
97. Steinberger J, Daniels SR, Eckel RH, Hayman L, Lustig RH, McCrindle B, Mietus-Snyder ML. Progress and challenges in metabolic syndrome in children and adolescents: A scientific statement from the american heart association atherosclerosis, hypertension, and obesity in the young committee of the council on cardiovascular disease in the young; council on cardiovascular nursing; and council on nutrition, physical activity, and metabolism. *Circulation.* 2009;119:628-647
98. Rabago Rodriguez R, Gomez-Diaz RA, Tanus Haj J, Avelar Garnica FJ, Ramirez Soriano E, Nishimura Meguro E, Aguilar-Salinas CA, Wachter NH. Carotid intima-media thickness in pediatric type 1 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2007;30:2599-2602
99. Cobble M, Bale B. Carotid intima-media thickness: Knowledge and application to everyday practice. *Postgrad Med.* 2010;122:10-18
100. Kablak-Ziembicka A, Przewlocki T, Tracz W, Pieniazek P, Musialek P, Sokolowski A. Gender differences in carotid intima-media thickness in patients with suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2005;96:1217-1222
101. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, Clegg LX. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: The atherosclerosis risk in communities (aric) study, 1987-1993. *Am J Epidemiol.* 1997;146:483-494

102. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular health study collaborative research group. *N Engl J Med.* 1999;340:14-22
103. Bots ML, Baldassarre D, Simon A, de Groot E, O'Leary DH, Riley W, Kastelein JJ, Grobbee DE. Carotid intima-media thickness and coronary atherosclerosis: Weak or strong relations? *Eur Heart J.* 2007;28:398-406
104. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, Deanfield J, Drexler H, Gerhard-Herman M, Herrington D, Vallance P, Vita J, Vogel R. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the international brachial artery reactivity task force. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:257-265
105. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrange D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol.* 1995;26:1235-1241
106. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Luscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation.* 1995;91:1314-1319
107. Celermajer DS. Reliable endothelial function testing: At our fingertips? *Circulation.* 2008;117:2428-2430
108. Rosenthal DN, Chin C. Brachial artery reactivity: A modified technique with applicability to children. *J Am Soc Echocardiogr.* 1999;12:850-852

109. Haller MJ, Stein J, Shuster J, Theriaque D, Silverstein J, Schatz DA, Earing MG, Lerman A, Mahmud FH. Peripheral artery tonometry demonstrates altered endothelial function in children with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2007;8:193-198
110. Hamburg NM, Benjamin EJ. Assessment of endothelial function using digital pulse amplitude tonometry. *Trends Cardiovasc Med*. 2009;19:6-11
111. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, Pandian NG, Rand WM, Udelson JE, Karas RH. Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:1843-1849
112. Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Lavi S, Nelson RE, Pumper GM, Lerman LO, Lerman A. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J*. 2010;31:1142-1148
113. Naka KK, Tweddel AC, Doshi SN, Goodfellow J, Henderson AH. Flow-mediated changes in pulse wave velocity: A new clinical measure of endothelial function. *Eur Heart J*. 2006;27:302-309
114. Reusz GS, Cseprekal O, Temmar M, Kis E, Cherif AB, Thaleb A, Fekete A, Szabo AJ, Benetos A, Salvi P. Reference values of pulse wave velocity in healthy children and teenagers. *Hypertension*. 2010;56:217-224
115. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, O'Rourke MF, Safar ME, Baou K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with central haemodynamics: A systematic review and meta-analysis. *Eur Heart J*. 2010;31:1865-1871

116. Rifai N, Ridker PM. Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity c-reactive protein and lipid screening. *Clin Chem*. 2001;47:28-30
117. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC, Jr., Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the centers for disease control and prevention and the american heart association. *Circulation*. 2003;107:499-511
118. Soriano-Guillen L, Hernandez-Garcia B, Pita J, Dominguez-Garrido N, Del Rio-Camacho G, Rovira A. High-sensitivity c-reactive protein is a good marker of cardiovascular risk in obese children and adolescents. *Eur J Endocrinol*. 2008;159:R1-4
119. Hiura M, Kikuchi T, Nagasaki K, Uchiyama M. Elevation of serum c-reactive protein levels is associated with obesity in boys. *Hypertens Res*. 2003;26:541-546
120. Devaraj S, Davis B, Simon SI, Jialal I. Crp promotes monocyte-endothelial cell adhesion via fcgamma receptors in human aortic endothelial cells under static and shear flow conditions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291:H1170-1176
121. Qamirani E, Ren Y, Kuo L, Hein TW. C-reactive protein inhibits endothelium-dependent no-mediated dilation in coronary arterioles by activating p38 kinase and nad(p)h oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:995-1001

122. Hein TW, Singh U, Vasquez-Vivar J, Devaraj S, Kuo L, Jialal I. Human c-reactive protein induces endothelial dysfunction and uncoupling of enos in vivo. *Atherosclerosis*. 2009;206:61-68
123. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. C-reactive protein: Risk marker or mediator in atherothrombosis? *Hypertension*. 2004;44:6-11
124. Pandolfi A. C-reactive protein: A potential new molecular link between inflammation, thrombosis and vascular cell proliferation? *Cardiovasc Res*. 2005;68:3-4
125. George J, Goldstein E, Abashidze S, Deutsch V, Shmilovich H, Finkelstein A, Herz I, Miller H, Keren G. Circulating endothelial progenitor cells in patients with unstable angina: Association with systemic inflammation. *Eur Heart J*. 2004;25:1003-1008
126. Devaraj S, Singh U, Jialal I. The evolving role of c-reactive protein in atherothrombosis. *Clin Chem*. 2009;55:229-238
127. Karatzis EN. The role of inflammatory agents in endothelial function and their contribution to atherosclerosis. *Hellenic J Cardiol*. 2005;46:232-239
128. Guerreiro R, Santos-Costa Q, Azevedo-Pereira JM. [the chemokines and their receptors: Characteristics and physiological functions]. *Acta Med Port*. 2011;24 Suppl 4:967-976
129. Braunersreuther V, Mach F, Steffens S. The specific role of chemokines in atherosclerosis. *Thromb Haemost*. 2007;97:714-721
130. Martinovic I, Abegunewardene N, Seul M, Vosseler M, Horstick G, Buerke M, Darius H, Lindemann S. Elevated monocyte chemoattractant protein-1 serum levels in patients at risk for coronary artery disease. *Circ J*. 2005;69:1484-1489

131. Harsimran K, Singh AA, Guruvinder S, Sharda S, Vasudha S. Plasma monocyte chemoattractant protein-1 as risk marker in type 2 diabetes *mellitus* and coronary artery disease in north indians. *Diab Vasc Dis Res.* 2009;6:288-290
132. Breslin WL, Johnston CA, Strohacker K, Carpenter KC, Davidson TR, Moreno JP, Foreyt JP, McFarlin BK. Obese mexican american children have elevated mcp-1, tnf-alpha, monocyte concentration, and dyslipidemia. *Pediatrics.* 2012;129:e1180-1186
133. Walzog B, Gaehtgens P. Adhesion molecules: The path to a new understanding of acute inflammation. *News Physiol Sci.* 2000;15:107-113
134. Ferri C, Desideri G, Valenti M, Bellini C, Pasin M, Santucci A, De Mattia G. Early upregulation of endothelial adhesion molecules in obese hypertensive men. *Hypertension.* 1999;34:568-573
135. Glowinska B, Urban M, Peczynska J, Florys B. Soluble adhesion molecules (sicam-1, svcam-1) and selectins (se selectin, sp selectin, sl selectin) levels in children and adolescents with obesity, hypertension, and diabetes. *Metabolism.* 2005;54:1020-1026
136. Ponthieux A, Herbeth B, Drosch S, Lambert D, Visvikis S. Age- and sex-related reference values for serum adhesion molecule concentrations in healthy individuals: Intercellular adhesion molecule-1 and e-, p-, and l-selectin. *Clin Chem.* 2003;49:1544-1546
137. Andrys C, Pozler O, Krejsek J, Derner V, Drahosova M, Kopecky O. Serum soluble adhesion molecules (sicam-1, svcam-1 and se-selectin) in healthy school aged children and adults. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2000;43:103-106

138. Nash MC, Wade AM, Shah V, Dillon MJ. Normal levels of soluble e-selectin, soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), and soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) decrease with age. *Clin Exp Immunol.* 1996;103:167-170
139. Desideri G, De Simone M, Iughetti L, Rosato T, Iezzi ML, Marinucci MC, Cofini V, Croce G, Passacuale G, Necozone S, Ferri C. Early activation of vascular endothelial cells and platelets in obese children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:3145-3152
140. Tousoulis D, Kampoli AM, Tentolouris C, Papageorgiou N, Stefanadis C. The role of nitric oxide on endothelial function. *Curr Vasc Pharmacol.* 2012;10:4-18
141. Ghasemi A, Zahediasl S. Is nitric oxide a hormone? *Iran Biomed J.* 2011;15:59-65
142. Sibal L, Agarwal SC, Home PD, Boger RH. The role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Curr Cardiol Rev.* 2010;6:82-90
143. Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): A novel risk factor for endothelial dysfunction: Its role in hypercholesterolemia. *Circulation.* 1998;98:1842-1847
144. Meinitzer A, Seelhorst U, Wellnitz B, Halwachs-Baumann G, Boehm BO, Winkelmann BR, Marz W. Asymmetrical dimethylarginine independently predicts total and cardiovascular mortality in individuals with angiographic coronary artery disease (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Clin Chem.* 2007;53:273-283

145. Eid HM, Arnesen H, Hjerkin EM, Lyberg T, Seljeflot I. Relationship between obesity, smoking, and the endogenous nitric oxide synthase inhibitor, asymmetric dimethylarginine. *Metabolism*. 2004;53:1574-1579
146. Boger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res*. 2003;59:824-833
147. Gruber HJ, Mayer C, Meinitzer A, Almer G, Horejsi R, Moller R, Pilz S, Marz W, Gasser R, Truschnig-Wilders M, Mangge H. Asymmetric dimethylarginine (adma) is tightly correlated with growth in juveniles without correlations to obesity related disorders. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2008;116:520-524
148. Lu TM, Ding YA, Lin SJ, Lee WS, Tai HC. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*. 2003;24:1912-1919
149. Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimaki T, Laakso J, Laaksonen R. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*. 2001;358:2127-2128
150. Furuki K, Adachi H, Matsuoka H, Enomoto M, Satoh A, Hino A, Hirai Y, Imaizumi T. Plasma levels of asymmetric dimethylarginine (adma) are related to intima-media thickness of the carotid artery: An epidemiological study. *Atherosclerosis*. 2007;191:206-210
151. Tripepi G, Mattace Raso F, Sijbrands E, Seck MS, Maas R, Boger R, Witteman J, Rapisarda F, Malatino L, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation and asymmetric dimethylarginine for predicting death and cardiovascular events in esrd patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6:1714-1721

152. Bruyndonckx L, Hoymans VY, Van Craenenbroeck AH, Vissers DK, Vrints CJ, Ramet J, Conraads VM. Assessment of endothelial dysfunction in childhood obesity and clinical use. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:174782
153. Du F, Zhou J, Gong R, Huang X, Pansuria M, Virtue A, Li X, Wang H, Yang XF. Endothelial progenitor cells in atherosclerosis. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2012;17:2327-2349
154. Hirschi KK, Ingram DA, Yoder MC. Assessing identity, phenotype, and fate of endothelial progenitor cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1584-1595
155. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, Nayar R, Chin-Yee I. The ishage guidelines for cd34+ cell determination by flow cytometry. International society of hematotherapy and graft engineering. *J Hematother*. 1996;5:213-226
156. Yoder MC. Human endothelial progenitor cells. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2:a006692
157. Arnold C, Wenta D, Muller-Ehmsen J, Sreeram N, Graf C. Progenitor cell number is correlated to physical performance in obese children and young adolescents. *Cardiol Young*. 2010;20:381-386
158. Jung C, Fischer N, Fritzenwanger M, Thude H, Ferrari M, Fabris M, Brehm BR, Barz D, Figulla HR. Endothelial progenitor cells in adolescents: Impact of overweight, age, smoking, sport and cytokines in younger age. *Clin Res Cardiol*. 2009;98:179-188
159. MacEneaney OJ, Kushner EJ, Van Guilder GP, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA. Endothelial progenitor cell number and colony-forming capacity in overweight and obese adults. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33:219-225

160. Medina RJ, O'Neill CL, Sweeney M, Guduric-Fuchs J, Gardiner TA, Simpson DA, Stitt AW. Molecular analysis of endothelial progenitor cell (epc) subtypes reveals two distinct cell populations with different identities. *BMC Med Genomics*. 2010;3:18
161. Butte NF, Garza C, de Onis M. Evaluation of the feasibility of international growth standards for school-aged children and adolescents. *J Nutr*. 2007;137:153-157
162. Rezende FA, Rosado LE, Ribeiro Rde C, Vidigal Fde C, Vasques AC, Bonard IS, de Carvalho CR. Body mass index and waist circumference: Association with cardiovascular risk factors. *Arq Bras Cardiol*. 2006;87:728-734
163. Cameron N. Essential anthropometry: Baseline anthropometric methods for human biologists in laboratory and field situations. *Am J Hum Biol*. 2013;25:291-299
164. Lyon HN, Hirschhorn JN. Genetics of common forms of obesity: A brief overview. *Am J Clin Nutr*. 2005;82:215S-217S
165. Linabery AM, Nahhas RW, Johnson W, Choh AC, Towne B, Odegaard AO, Czerwinski SA, Demerath EW. Stronger influence of maternal than paternal obesity on infant and early childhood body mass index: The fels longitudinal study. *Pediatr Obes*. 2013;8:159-169
166. Whitaker RC, Wright JA, Pepe MS, Seidel KD, Dietz WH. Predicting obesity in young adulthood from childhood and parental obesity. *N Engl J Med*. 1997;337:869-873

167. Schellong K, Schulz S, Harder T, Plagemann A. Birth weight and long-term overweight risk: Systematic review and a meta-analysis including 643,902 persons from 66 studies and 26 countries globally. *PLoS One*. 2012;7:e47776
168. Baird J, Fisher D, Lucas P, Kleijnen J, Roberts H, Law C. Being big or growing fast: Systematic review of size and growth in infancy and later obesity. *BMJ*. 2005;331:929
169. Leeson CP, Kattenhorn M, Morley R, Lucas A, Deanfield JE. Impact of low birth weight and cardiovascular risk factors on endothelial function in early adult life. *Circulation*. 2001;103:1264-1268
170. Koyama S, Ichikawa G, Kojima M, Shimura N, Sairenchi T, Arisaka O. Adiposity rebound and the development of metabolic syndrome. *Pediatrics*. 2014;133:e114-119
171. Pilcova R, Sulcova J, Hill M, Blaha P, Lisa L. Leptin levels in obese children: Effects of gender, weight reduction and androgens. *Physiol Res*. 2003;52:53-60
172. Kumada M, Kihara S, Sumitsuji S, Kawamoto T, Matsumoto S, Ouchi N, Arita Y, Okamoto Y, Shimomura I, Hiraoka H, Nakamura T, Funahashi T, Matsuzawa Y. Association of hypoadiponectinemia with coronary artery disease in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:85-89
173. Winer JC, Zern TL, Taksali SE, Dziura J, Cali AM, Wollschlager M, Seyal AA, Weiss R, Burgert TS, Caprio S. Adiponectin in childhood and adolescent obesity and its association with inflammatory markers and components of the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4415-4423
174. Garcia-Mayor RV, Andrade MA, Rios M, Lage M, Dieguez C, Casanueva FF. Serum leptin levels in normal children: Relationship to age, gender, body mass

- index, pituitary-gonadal hormones, and pubertal stage. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:2849-2855
175. La Cava A, Alviggi C, Matarese G. Unraveling the multiple roles of leptin in inflammation and autoimmunity. *J Mol Med (Berl)*. 2004;82:4-11
176. Chen K, Li F, Li J, Cai H, Strom S, Bisello A, Kelley DE, Friedman-Einat M, Skibinski GA, McCrory MA, Szalai AJ, Zhao AZ. Induction of leptin resistance through direct interaction of c-reactive protein with leptin. *Nat Med.* 2006;12:425-432
177. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Muller J, Skakkebaek NE, Heiman ML, Birkett M, Attanasio AM, Kiess W, Rascher W. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: Dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:2904-2910
178. Bottner A, Kratzsch J, Muller G, Kapellen TM, Bluher S, Keller E, Bluher M, Kiess W. Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4053-4061
179. Spolidoro JV, Pitrez Filho ML, Vargas LT, Santana JC, Pitrez E, Hauschild JA, Bruscatto NM, Moriguchi EH, Medeiros AK, Piva JP. Waist circumference in children and adolescents correlate with metabolic syndrome and fat deposits in young adults. *Clin Nutr.* 2013;32:93-97
180. Singh P, Hoffmann M, Wolk R, Shamsuzzaman AS, Somers VK. Leptin induces c-reactive protein expression in vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:e302-307

181. De Rosa S, Cirillo P, Pacileo M, Di Palma V, Paglia A, Chiariello M. Leptin stimulated c-reactive protein production by human coronary artery endothelial cells. *J Vasc Res.* 2009;46:609-617
182. Ouchi N, Walsh K. A novel role for adiponectin in the regulation of inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1219-1221
183. Panee J. Monocyte chemoattractant protein 1 (mcp-1) in obesity and diabetes. *Cytokine.* 2012;60:1-12
184. Parrett AL, Valentine RJ, Arngrimsson SA, Castelli DM, Evans EM. Adiposity, activity, fitness, and c-reactive protein in children. *Med Sci Sports Exerc.* 2010;42:1981-1986
185. Valle M, Martos R, Gascon F, Canete R, Zafra MA, Morales R. Low-grade systemic inflammation, hypoadiponectinemia and a high concentration of leptin are present in very young obese children, and correlate with metabolic syndrome. *Diabetes Metab.* 2005;31:55-62
186. Hassink SG, Sheslow DV, de Lancey E, Opentanova I, Considine RV, Caro JF. Serum leptin in children with obesity: Relationship to gender and development. *Pediatrics.* 1996;98:201-203
187. Cook DG, Mendall MA, Whincup PH, Carey IM, Ballam L, Morris JE, Miller GJ, Strachan DP. C-reactive protein concentration in children: Relationship to adiposity and other cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis.* 2000;149:139-150
188. Lahlou N, Landais P, De Boissieu D, Bougneres PF. Circulating leptin in normal children and during the dynamic phase of juvenile obesity: Relation to body

- fatness, energy metabolism, caloric intake, and sexual dimorphism. *Diabetes*. 1997;46:989-993
189. Rao GS, Gurumurthy P, Gururajan P, Saibabu R, Cherian KM. Serum e-selectin levels in indian children and adolescents: Relation to clinical and biochemical parameters. *Pediatr Int*. 2011;53:40-45
190. Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Tominaga T, Horikami K, Hirao K, Ueki Y, Miyake S. High serum concentrations of soluble e-selectin correlate with obesity but not fat distribution in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2002;51:932-934
191. Huang F, del-Rio-Navarro BE, Monge JJ, Torres Alcantara S, Ontiveros JA, Olivos EN, Martinez de Castro NG, Zhao L, Hong E. Endothelial activation and systemic inflammation in obese asthmatic children. *Allergy Asthma Proc*. 2008;29:453-460
192. El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Ibrahim SM. Adiponectin and pro-inflammatory cytokines in obese diabetic boys. *Indian Pediatr*. 2011;48:815-816
193. El-Mesallamy HO, Hamdy NM, Salman TM, Ibrahim SM. Adiponectin and se-selectin concentrations in relation to inflammation in obese type 2 diabetic patients with coronary heart disease. *Angiology*. 2012;63:96-102
194. Wolk R, Deb A, Caplice NM, Somers VK. Leptin receptor and functional effects of leptin in human endothelial progenitor cells. *Atherosclerosis*. 2005;183:131-139
195. Lavoie V, Kernaleguen AE, Charron G, Farhat N, Cossette M, Mamarbachi AM, Allen BG, Rheume E, Tardif JC. Functional effects of adiponectin on endothelial progenitor cells. *Obesity (Silver Spring)*. 2011;19:722-728

196. Shibata R, Skurk C, Ouchi N, Galasso G, Kondo K, Ohashi T, Shimano M, Kihara S, Murohara T, Walsh K. Adiponectin promotes endothelial progenitor cell number and function. *FEBS Lett.* 2008;582:1607-1612
197. Xu MG, Men LN, Wang HX, Zu Y, Zhao CY, Zhao X, Cai HB, Meng XC, Wang T. [decreased circulating endothelial progenitor cell function: Relationship with serum concentrations of high-sensitivity c-reactive protein in children with kawasaki disease]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2010;12:513-517
198. Jie KE, Lilien MR, Goossens MH, Westerweel PE, Klein MK, Verhaar MC. Reduced endothelial progenitor cells in children with hemodialysis but not predialysis chronic kidney disease. *Pediatrics.* 2010;126:e990-993
199. Chiarelli F, Marcovecchio ML. Insulin resistance and obesity in childhood. *Eur J Endocrinol.* 2008;159 Suppl 1:S67-74
200. Lee JM, Okumura MJ, Davis MM, Herman WH, Gurney JG. Prevalence and determinants of insulin resistance among u.S. Adolescents: A population-based study. *Diabetes Care.* 2006;29:2427-2432
201. Ascaso JF, Pardo S, Real JT, Lorente RI, Priego A, Carmena R. Diagnosing insulin resistance by simple quantitative methods in subjects with normal glucose metabolism. *Diabetes Care.* 2003;26:3320-3325
202. McAuley KA, Williams SM, Mann JI, Walker RJ, Lewis-Barned NJ, Temple LA, Duncan AW. Diagnosing insulin resistance in the general population. *Diabetes Care.* 2001;24:460-464
203. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006;116:1793-1801

204. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 2006;17:4-12
205. Kurtoglu S, Hatipoglu N, Mazicioglu M, Kendirici M, Keskin M, Kondolot M. Insulin resistance in obese children and adolescents: Homa-ir cut-off levels in the prepubertal and pubertal periods. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2010;2:100-106
206. Steinberger J, Steffen L, Jacobs DR, Jr., Moran A, Hong CP, Sinaiko AR. Relation of leptin to insulin resistance syndrome in children. *Obes Res.* 2003;11:1124-1130
207. Panagopoulou P, Galli-Tsinopoulou A, Fleva A, Pavlitou-Tsiontsi E, Vavatsi-Christaki N, Nousia-Arvanitakis S. Adiponectin and insulin resistance in childhood obesity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47:356-362
208. Snehalatha C, Yamuna A, Ramachandran A. Plasma adiponectin does not correlate with insulin resistance and cardiometabolic variables in nondiabetic asian indian teenagers. *Diabetes Care.* 2008;31:2374-2379
209. Lee S, Bacha F, Gungor N, Arslanian SA. Racial differences in adiponectin in youth: Relationship to visceral fat and insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2006;29:51-56
210. Akinci G, Akinci B, Coskun S, Bayindir P, Hekimsoy Z, Ozmen B. Evaluation of markers of inflammation, insulin resistance and endothelial dysfunction in children at risk for overweight. *Hormones (Athens).* 2008;7:156-162

211. Moran A, Steffen LM, Jacobs DR, Jr., Steinberger J, Pankow JS, Hong CP, Tracy RP, Sinaiko AR. Relation of c-reactive protein to insulin resistance and cardiovascular risk factors in youth. *Diabetes Care*. 2005;28:1763-1768
212. Chacon MR, Fernandez-Real JM, Richart C, Megia A, Gomez JM, Miranda M, Caubet E, Pastor R, Masdevall C, Vilarrasa N, Ricard W, Vendrell J. Monocyte chemoattractant protein-1 in obesity and type 2 diabetes. Insulin sensitivity study. *Obesity (Silver Spring)*. 2007;15:664-672
213. Rull A, Camps J, Alonso-Villaverde C, Joven J. Insulin resistance, inflammation, and obesity: Role of monocyte chemoattractant protein-1 (or ccl2) in the regulation of metabolism. *Mediators Inflamm*. 2010;2010
214. Alemzadeh R, Kichler J. Gender differences in the association of insulin resistance and high-sensitivity c-reactive protein in obese adolescents. *J Diabetes Metab Disord*. 2014;13:35
215. Guran T, Turan S, Akcay T, Bereket A. Significance of acanthosis nigricans in childhood obesity. *J Paediatr Child Health*. 2008;44:338-341
216. Viner RM, Segal TY, Lichtarowicz-Krynska E, Hindmarsh P. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch Dis Child*. 2005;90:10-14
217. Hirschler V, Aranda C, Oneto A, Gonzalez C, Jadzinsky M. Is acanthosis nigricans a marker of insulin resistance in obese children? *Diabetes Care*. 2002;25:2353
218. Ridker PM. High-sensitivity c-reactive protein, inflammation, and cardiovascular risk: From concept to clinical practice to clinical benefit. *Am Heart J*. 2004;148:S19-26

219. Kluczynik CE, Mariz LS, Souza LC, Solano GB, Albuquerque FC, Medeiros CC. Acanthosis nigricans and insulin resistance in overweight children and adolescents. *An Bras Dermatol*. 2012;87:531-537
220. Riley M, Bluhm B. High blood pressure in children and adolescents. *Am Fam Physician*. 2012;85:693-700
221. Kotchen TA. Obesity-related hypertension: Epidemiology, pathophysiology, and clinical management. *Am J Hypertens*. 2010;23:1170-1178
222. Sorof J, Daniels S. Obesity hypertension in children: A problem of epidemic proportions. *Hypertension*. 2002;40:441-447
223. Flores-Huerta S, Klunder-Klunder M, Reyes de la Cruz L, Santos JI. Increase in body mass index and waist circumference is associated with high blood pressure in children and adolescents in Mexico City. *Arch Med Res*. 2009;40:208-215
224. Nishina M, Kikuchi T, Yamazaki H, Kameda K, Hiura M, Uchiyama M. Relationship among systolic blood pressure, serum insulin and leptin, and visceral fat accumulation in obese children. *Hypertens Res*. 2003;26:281-288
225. Chu NF, Wang DJ, Shieh SM. Obesity, leptin and blood pressure among children in Taiwan: The Taipei Children's Heart Study. *Am J Hypertens*. 2001;14:135-140
226. Shankar A, Xiao J. Positive relationship between plasma leptin level and hypertension. *Hypertension*. 2010;56:623-628
227. Bravo PE, Morse S, Borne DM, Aguilar EA, Reisin E. Leptin and hypertension in obesity. *Vasc Health Risk Manag*. 2006;2:163-169
228. Hall JE, Hildebrandt DA, Kuo J. Obesity hypertension: Role of leptin and sympathetic nervous system. *Am J Hypertens*. 2001;14:103S-115S

229. Brambilla P, Antolini L, Street ME, Giussani M, Galbiati S, Valsecchi MG, Stella A, Zuccotti GV, Bernasconi S, Genovesi S. Adiponectin and hypertension in normal-weight and obese children. *Am J Hypertens*. 2013;26:257-264
230. Shaibi GQ, Cruz ML, Weigensberg MJ, Toledo-Corral CM, Lane CJ, Kelly LA, Davis JN, Koebnick C, Ventura EE, Roberts CK, Goran MI. Adiponectin independently predicts metabolic syndrome in overweight latino youth. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1809-1813
231. Feber J, Ahmed M. Hypertension in children: New trends and challenges. *Clin Sci (Lond)*. 2010;119:151-161
232. Noronha JA, Medeiros CC, Cardoso Ada S, Gonzaga NC, Ramos AT, Ramos AL. C-reactive protein and its relation to high blood pressure in overweight or obese children and adolescents. *Rev Paul Pediatr*. 2013;31:331-337
233. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA*. 2003;290:2945-2951
234. Pratt RE, Kavey RE, Quinzi D. Combined dyslipidemia in obese children: Response to a focused lifestyle approach. *J Clin Lipidol*. 2014;8:181-186
235. Howard BV, Ruotolo G, Robbins DC. Obesity and dyslipidemia. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003;32:855-867
236. Panayiotou A, Griffin M, Georgiou N, Bond D, Tyllis T, Tziakouri-Shiakalli C, Fessas C, Nicolaidis A. Apob/apoa1 ratio and subclinical atherosclerosis. *Int Angiol*. 2008;27:74-80
237. Walldius G, Jungner I. The apob/apoa-i ratio: A strong, new risk factor for cardiovascular disease and a target for lipid-lowering therapy--a review of the evidence. *J Intern Med*. 2006;259:493-519

238. Cunningham TE, Sayers SM, Singh GR. Lipoprotein(a) identifies cardiovascular risk in childhood: The Australian Aboriginal Birth Cohort Study. *J Paediatr Child Health*. 2011;47:257-261
239. Toth PP. High-density lipoprotein and cardiovascular risk. *Circulation*. 2004;109:1809-1812
240. Lima LM, Carvalho M, Sousa MO. Apo B/Apo A-I ratio and cardiovascular risk prediction. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88:e187-190
241. Rothenbacher D, Brenner H, Marz W, Koenig W. Adiponectin, risk of coronary heart disease and correlations with cardiovascular risk markers. *Eur Heart J*. 2005;26:1640-1646
242. Jung UJ, Choi MS. Obesity and its metabolic complications: The role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*. 2014;15:6184-6223
243. Klunder-Klunder M, Flores-Huerta S, Garcia-Macedo R, Peralta-Romero J, Cruz M. Adiponectin in eutrophic and obese children as a biomarker to predict metabolic syndrome and each of its components. *BMC Public Health*. 2013;13:88
244. Gilardini L, McTernan PG, Girola A, da Silva NF, Alberti L, Kumar S, Invitti C. Adiponectin is a candidate marker of metabolic syndrome in obese children and adolescents. *Atherosclerosis*. 2006;189:401-407
245. Martins Mdo C, Lima Faleiro L, Fonseca A. [relationship between leptin and body mass and metabolic syndrome in an adult population]. *Rev Port Cardiol*. 2012;31:711-719

246. Wu DM, Chu NF, Shen MH, Chang JB. Plasma c-reactive protein levels and their relationship to anthropometric and lipid characteristics among children. *J Clin Epidemiol.* 2003;56:94-100
247. Zimmet P, Alberti G, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, Wong G, Bennett P, Shaw J, Caprio S. The metabolic syndrome in children and adolescents. *Lancet.* 2007;369:2059-2061
248. Ford ES, Li C, Zhao G, Pearson WS, Mokdad AH. Prevalence of the metabolic syndrome among u.S. Adolescents using the definition from the international diabetes federation. *Diabetes Care.* 2008;31:587-589
249. Friend A, Craig L, Turner S. The prevalence of metabolic syndrome in children: A systematic review of the literature. *Metab Syndr Relat Disord.* 2013;11:71-80
250. Kharod AM, Ramlogan SR, Kumar S, Raghuveer T, Drake W, Dai H, Raghuveer G. Childhood obesity increases left-ventricular mass irrespective of blood pressure status. *Pediatr Cardiol.* 2014;35:353-360
251. Maggio AB, Aggoun Y, Marchand LM, Martin XE, Herrmann F, Beghetti M, Farpour-Lambert NJ. Associations among obesity, blood pressure, and left ventricular mass. *J Pediatr.* 2008;152:489-493
252. Lavie CJ, Milani RV, Shah SB, Gilliland YE, Bernal JA, Dinshaw H, Ventura HO. Impact of left ventricular geometry on prognosis-a review of ochsner studies. *Ochsner J.* 2008;8:11-17
253. Pascual M, Pascual DA, Soria F, Vicente T, Hernandez AM, Tebar FJ, Valdes M. Effects of isolated obesity on systolic and diastolic left ventricular function. *Heart.* 2003;89:1152-1156

254. Abel ED, Litwin SE, Sweeney G. Cardiac remodeling in obesity. *Physiol Rev.* 2008;88:389-419
255. Alp H, Karaarslan S, Eklioglu BS, Atabek ME, Baysal T. The effect of hypertension and obesity on left ventricular geometry and cardiac functions in children and adolescents. *J Hypertens.* 2014;32:1283-1292
256. Perego L, Pizzocri P, Corradi D, Maisano F, Paganelli M, Fiorina P, Barbieri M, Morabito A, Paolisso G, Folli F, Pontiroli AE. Circulating leptin correlates with left ventricular mass in morbid (grade iii) obesity before and after weight loss induced by bariatric surgery: A potential role for leptin in mediating human left ventricular hypertrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:4087-4093
257. Pladevall M, Williams K, Guyer H, Sadurni J, Falces C, Ribes A, Pare C, Brotons C, Gabriel R, Serrano-Rios M, Haffner S. The association between leptin and left ventricular hypertrophy: A population-based cross-sectional study. *J Hypertens.* 2003;21:1467-1473
258. Bidulescu A, Liu J, Musani SK, Fox ER, Samdarshi TE, Sarpong DF, Vaccarino V, Wilson PW, Arnett DK, Din-Dzietham R, Taylor HA, Gibbons GH. Association of adiponectin with left ventricular mass in blacks: The jackson heart study. *Circ Heart Fail.* 2011;4:747-753
259. Iwashima Y, Horio T, Kamide K, Rakugi H, Ogihara T, Kawano Y. C-reactive protein, left ventricular mass index, and risk of cardiovascular disease in essential hypertension. *Hypertens Res.* 2007;30:1177-1185
260. Lai YH, Liu CC, Kuo JY, Hung TC, Wu YJ, Yeh HI, Bulwer BE, Hung CL. Independent effects of body fat and inflammatory markers on ventricular

- geometry, midwall function, and atrial remodeling. *Clin Cardiol.* 2014;37:172-177
261. Malavazos AE, Cereda E, Morricone L, Coman C, Corsi MM, Ambrosi B. Monocyte chemoattractant protein 1: A possible link between visceral adipose tissue-associated inflammation and subclinical echocardiographic abnormalities in uncomplicated obesity. *Eur J Endocrinol.* 2005;153:871-877
262. Alpert MA. Obesity cardiomyopathy: Pathophysiology and evolution of the clinical syndrome. *Am J Med Sci.* 2001;321:225-236
263. Iannuzzi A, Licenziati MR, Acampora C, Salvatore V, Auriemma L, Romano ML, Panico S, Rubba P, Trevisan M. Increased carotid intima-media thickness and stiffness in obese children. *Diabetes Care.* 2004;27:2506-2508
264. Tounian P, Aggoun Y, Dubern B, Varille V, Guy-Grand B, Sidi D, Girardet JP, Bonnet D. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: A prospective study. *Lancet.* 2001;358:1400-1404
265. Fang J, Zhang JP, Luo CX, Yu XM, Lv LQ. Carotid intima-media thickness in childhood and adolescent obesity relations to abdominal obesity, high triglyceride level and insulin resistance. *Int J Med Sci.* 2010;7:278-283
266. Nam JS, Cho M, Park JS, Ahn CW, Cha BS, Lee EJ, Lim SK, Kim KR, Lee HC. Change in waist circumference and the progression of subclinical atherosclerosis in type 2 diabetes patients. *Obes Res Clin Pract.* 2011;5:e169-266
267. Ciccone M, Vettor R, Pannacciulli N, Minenna A, Bellacicco M, Rizzon P, Giorgino R, De Pergola G. Plasma leptin is independently associated with the

- intima-media thickness of the common carotid artery. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25:805-810
268. Ozguven I, Ersoy B, Ozguven A, Ozkol M, Onur E. Factors affecting carotid intima media thickness predicts early atherosclerosis in overweight and obese adolescents. *Obes Res Clin Pract.* 2010;4:e1-e82
269. Gardener H, Sjoberg C, Crisby M, Goldberg R, Mendez A, Wright CB, Elkind MS, Sacco RL, Rundek T. Adiponectin and carotid intima-media thickness in the northern manhattan study. *Stroke.* 2012;43:1123-1125
270. Norata GD, Raselli S, Grigore L, Garlaschelli K, Dozio E, Magni P, Catapano AL. Leptin:Adiponectin ratio is an independent predictor of intima media thickness of the common carotid artery. *Stroke.* 2007;38:2844-2846
271. Sardo MA, Campo S, Mandraffino G, Saitta C, Bonaiuto A, Castaldo M, Cinquegrani M, Pizzimenti G, Saitta A. Tissue factor and monocyte chemoattractant protein-1 expression in hypertensive individuals with normal or increased carotid intima-media wall thickness. *Clin Chem.* 2008;54:814-823