

**UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO - UNINOVE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA**

CYLMARA GARGALAK AZIZ SILVEIRA

**Avaliação de biomarcadores de inflamação e de permeabilidade intestinal
em adolescentes obesos**

São Paulo

2020

Cylmara Gargalak Aziz Silveira

**Avaliação de biomarcadores de inflamação e de permeabilidade intestinal
em adolescentes obesos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina da Universidade Nove de Julho - UNINOVE, como requisito para obtenção do título de “Doutor em Ciências da Saúde”.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Dalboni

São Paulo

2020

Silveira, Cylmara Gargalak Aziz.

Avaliação de biomarcadores de inflamação e de permeabilidade intestinal em adolescentes obesos. / Cylmara Gargalak Aziz Silveira. 2020.

78 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2020.

Orientador (a): Profª. Drª. Maria Aparecida Dalboni.

1. Obesidade. 2. Adolescentes. 3. Inflamação. 4. Permeabilidade intestinal.

I. Dalboni, Maria Aparecida.

II. Título.

CDU 616



São Paulo 26 de junho de 2020

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluna: **CYLMARA GARGALAK AZIZ SILVEIRA**

Titulo da tese: **AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES DE INFLAMAÇÃO E DE PERMEABILIDADE INTESTINAL EM ADOLESCENTES OBESOS.**

Presidente: PROFA. DRA. MARIA APARECIDA DALBONI_

Membro: PROFA. DRA. IVANI CREDIDIO TROMBETTA_

Membro: PROFA. DRA. SIMONE DAL CORSO_

Membro: PROFA. DRA. LUCIENE MACHADO DOS REIS_

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos amores da minha vida: meu pai **Pedro Aziz**, exemplo de homem correto, inteligente e amoroso; minha mãe **Ana Gargalak Aziz**, grande esposa, inigualável mãe e avó; meu irmão **Carlos Eli**, a quem posso recorrer em qualquer momento; meu marido **João Vicente**, meu grande amor, incentivador e companheiro; minhas filhas trigêmeas, meus tesouros presenteados a nós por Deus: **Isabelle**, que esteve comigo por muitas madrugadas estudando, que escolheu a profissão dos pais e muito me alegra por sua dedicação e amor em cuidar do próximo; **Anna Carolina**, que me orgulha pelo caminho profissional escolhido e sua grande aplicação em tudo que faz; e **Marianna** que, sempre muito decidida, optou pelos mais desafiadores rumos e muito me alegra com suas realizações. Obrigada por tolerarem minha ausência em prol dos meus estudos e trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me amparar, proteger e me direcionar em todas as circunstâncias da minha vida.

Meu reconhecimento e gratidão à minha orientadora, Profa. Dra. Maria Aparecida Dalboni, pelo tempo dedicado em dividir seus ricos conhecimentos comigo e caminhar junto a mim para a realização deste sonho.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina. O saber se aprende com mestres e livros. O que importa na vida não é o ponto de partida, mas a caminhada.”

Cora Coralina

Agradeço à querida amiga, Profa. Dra. Fernanda Consolim Colombo, que me motivou em iniciar este projeto e muito me ensinou no decorrer desta trajetória.

Ao meu anjo, Profa. Dra. Carine Teles Sangaleti Miyahara que, muitas vezes, renunciou ao seu tempo para me atender e aconselhar naquilo de que necessitei.

Ao amigo, Prof. Dr. Miguel Antônio Moretti, meu grande mestre, que, com seu conhecimento e didática, contribuiu na minha formação.

Ao meu marido, João Vicente, com quem compartilho todos os momentos da minha vida, que me incentivou a ingressar na vida acadêmica e sempre me apoiou com otimismo, amor e fé em Deus.

Agradeço a Marianna Lopes, Cecília Medina e Carolina Azevedo, que colaboraram na realização das coletas de dados e de amostras, como também nas análises do material biológico e, assim, em concretizar esta pesquisa.

Agradeço ao Paulo Roberto Marvulle e a toda a equipe do ambulatório da Uninove Vergueiro.

Minha gratidão aos adolescentes e pais que se voluntariaram e tornaram possível este projeto.

Silveira, C.G.A. **Avaliação de biomarcadores de inflamação e de permeabilidade intestinal em adolescentes obesos**. Tese de Doutorado. São Paulo: Programa de Pós-Graduação Doutorado em Medicina, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), 2020.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A obesidade é uma doença pró-inflamatória que pode alterar a microbiota intestinal, o que contribui para o desequilíbrio da imunidade inata e adquirida, lesões endoteliais e consequente aumento de risco de doenças cardiovasculares. **OBJETIVO:** Avaliar biomarcadores inflamatórios e de permeabilidade intestinal em adolescentes obesos comparados a adolescentes eutróficos e avaliar o efeito da intervenção com simbiótico sobre tais biomarcadores no grupo obeso. **MÉTODOS:** Estudo clínico prospectivo, que estudou 18 adolescentes obesos e 20 adolescentes eutróficos. Foram realizadas as seguintes avaliações: 1) Composição corporal: bioimpedância (BIA) e IMC; 2) Marcador de inflamação: IL6; 3) Avaliação de células imunes: linfócitos T CD4⁺, linfócitos T reg e monócitos; 4) Marcadores de permeabilidade intestinal: Zonulina e Lipopolissacarídeo (LPS). Os adolescentes obesos receberam por sessenta dias o simbiótico Simbioflora®, o conteúdo de 1 sachê ao dia e foram reavaliados novamente para os parâmetros descritos acima. **RESULTADOS:** Como esperado, os adolescentes obesos apresentaram maior índice de massa de gordura, menor massa livre de gordura, menor massa magra seca e maior IMC. Os adolescentes obesos apresentaram aumento significativo da pressão arterial sistólica (109±9 vs. 101 ±9; *p*: 0,009); da insulina (9,6±3,7 vs. 18,9±8,9; *p*:0,02); triglicérides (71±23 vs. 104±45; *p*:< 0,01); linfócito CD4⁺ (8,9±7,5 vs. 18,0±12,4; *p*:< 0,01), IL6 (0,26±0,06 vs. 0,30±0,06; *p*:0,02), e LPS (0,08± 0,05 vs. 0,18± 0,15; *p*:< 0,01) comparado com os adolescentes eutróficos, respectivamente. Após a intervenção com simbióticos nos adolescentes obesos, observamos aumento significativo dos Linfócitos CD4⁺ (18,0±12,4 vs. 29,6±10,6; *p*:0,002) e Linfócitos T reguladores (T reg) (9,9±5,4 vs. 14,0±6,7; *p*:0,02). **CONCLUSÃO:** Adolescentes obesos apresentam alterações antropométricas, bioquímicas e inflamatórias importantes que podem futuramente contribuir para maior risco de diabetes e desfechos cardiovasculares como hipertensão. O aumento do LPS sérico nessa população pode indicar o efeito do mecanismo fisiopatológico da obesidade sobre o desarranjo da barreira intestinal, contribuindo para um estado de microinflamação. A suplementação com simbiótico aumentou a expressão de linfócitos T reg que têm efeito anti-inflamatório.

Palavras-chave: Obesidade; adolescentes; inflamação; permeabilidade intestinal.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The obesity is a pro-inflammatory disease that can also alter the intestinal barrier permeability that contributes to the imbalance of innate and acquired immunity, endothelial lesions and the consequent increased risk of cardiovascular disease. **OBJECTIVE:** To evaluate inflammatory and intestinal permeability biomarkers in obese adolescents compared to eutrophic adolescents and to evaluate the effect of the symbiotic intervention on such biomarkers in the obese group. **METHODS:** Prospective clinical study, which were studied 18 obese adolescents and 20 eutrophic adolescents. The following evaluations were carried out: 1) Body composition: bioimpedance (BIA) and BMI; 2) Marker of inflammation: IL6; 3) Evaluation of immune cells: CD4⁺ T lymphocytes, T reg lymphocytes and monocytes; 4) Intestinal permeability markers: Zonulina and Lipopolysaccharide (LPS). Obese adolescents received the symbiotic Simbioflora® for sixty days and after that were evaluated for the parameters described above. **RESULTS:** As expected, obese adolescents had a higher fat mass index, less fat-free mass, less dry lean mass and a higher BMI. Obese adolescents showed a significant increase in systolic blood pressure (109±9 vs. 101±9; *p*: 0,009); insulin (9,6±3,7 vs. 18,9±8,9; *p*:0,02); triglycerides (71±23 vs. 104±45; *p*:<0,01); lymphocyte CD4⁺ (8,9±7,5 vs. 18,0± 12,4; *p*:<0,01), IL6 (0,26±0,06 vs. 0,30±0,06; *p*:0,02), and LPS (0,08±0,05 vs. 0,18±0,15; *p*:<0,01). After intervention with symbiotics in obese adolescents, we observed a significant increase in CD4⁺ (18,0±12,4 vs. 29,6±10,6; *p*:0,002) and T reg lymphocytes (9,9±5,4 vs. 14,0±6,7; *p*:0,02). **CONCLUSION:** Obese adolescents present a deleterious anthropometric, biochemical and inflammatory changes that may in future contribute to a higher risk of diabetes and cardiovascular outcomes such as hypertension. The increase in serum LPS in this population may indicate the effect of the pathophysiological mechanism of obesity on the breakdown of the intestinal barrier, contributing to a state of microinflammation. Symbiotic supplementation was able to increase expression of T reg lymphocytes; that play anti-inflammatory effect.

Keywords: Obesity; adolescents; inflammation; intestinal permeability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Prevalência mundial de crianças e adolescentes obesos de 1980-2010...14
Figura 2 -	Dados antropométricos na faixa etária de 10 a 19 anos, no Brasil, nos quatro últimos censos.....15
Figura 3 -	Perspectiva do aumento das taxas de obesidade entre crianças e adolescentes no mundo16
Figura 4 -	Efeitos da hipóxia tecidual nas funções da célula adiposa branca..... 20
Figura 5 -	Alterações morfológicas e funcionais do tecido adiposo visceral durante a obesidade23
Figura 6 -	Esquema representativo da interação da microbiota intestinal e sistema imune.....28
Figura 7 -	Relação disbiose e doenças de base imunológica e impactos da modulação da microbiota31
Figura 8 -	Fluxograma do estudo 1ª fase 42
Figura 9 -	Fluxograma do estudo 2ª fase 42

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1 -	Efeitos da obesidade em crianças e adolescentes	17
Quadro 2 -	Alterações da imunidade inata e adaptativa na obesidade	22
Quadro 3 -	Subpopulações dos monócitos humanos.....	24
Quadro 4 -	Descrição dos ensaios de ELISA e Espectrofotometria nos biomarcadores de inflamação e suas respectivas sensibilidades.	40
Quadro 5 -	Descrição dos fluorocromos utilizados na quantificação dos linfócitos T e monócitos na citometria de fluxo.....	40
Tabela 1 -	Dados antropométricos, de bioimpedância e de pressão arterial dos grupos Eutrófico e Obeso Pré-Intervenção	46
Tabela 2 -	Características descritivas das variáveis metabólicas, imunidade celular, biomarcador inflamatório e biomarcadores associados à permeabilidade intestinal dos grupos Eutrófico e Obeso Pré-Intervenção.....	47
Tabela 3 -	Dados das variáveis antropométricas, de bioimpedância e valores de pressão arterial no grupo Obeso Pré e Pós-Intervenção com simbiótico.	48
Tabela 4 -	Dados das variáveis dos biomarcadores inflamatórios e de células imunes no grupo Obeso Pré e Pós-Intervenção com simbiótico	48
Tabela 5 -	Dados das variáveis de biomarcadores associados à permeabilidade intestinal Pré e Pós-Intervenção com simbiótico	49
Tabela 6 -	Análise de correlações positivas do IMC.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS

ABESO -	Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica
AG -	Ácidos graxos
ANGPTL-4 -	<i>Angiopoietin-like protein-4</i>
BIA -	Bioimpedância elétrica
CA -	Circunferência abdominal
CC -	Circunferência cervical
CD14 -	<i>Cluster of differentiation 14</i>
CD16 -	<i>Cluster of differentiation 16</i>
CD25 -	<i>Cluster of differentiation 25</i>
CD3 -	<i>Cluster of differentiation 3</i>
CD4 -	<i>Cluster of differentiation 4</i>
CD8 -	<i>Cluster of differentiation 8</i>
CDs -	Células dendríticas
CSF -	<i>Colony stimulating factor</i>
DC -	<i>Dendritic cells</i>
DCNT-	Doenças crônicas não transmissíveis
DCV -	Doença cardiovascular
DM2 -	Diabetes mellitus tipo 2
DNA -	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
ERICA -	Estudo de riscos cardiovasculares em adolescentes
EUA -	Estados Unidos da América
F/B -	<i>Firmicutes/Bacteroidetes</i>
FoxP3 -	<i>Forkhead box P3</i>
GALT -	<i>Gut-associated lymphoid tissue</i>
GF -	<i>Germ free</i>
GLUT-1 -	<i>Glucose Transport-1</i>
HAS -	Hipertensão arterial sistêmica
HDL-c -	<i>High density lipoprotein-cholesterol</i>
HIF-1 -	<i>Hypoxia-inducible factor 1</i>
HOMA -	<i>Homeostatic model assessment</i>
IBGE -	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFN -	Interferon

IL-10 -	Interleucina-10
IL-13 -	Interleucina-13
IL-1 β -	Interleucina 1-beta
IL-4 -	Interleucina-4
IL-5 -	Interleucina-5
IL-6 -	Interleucina 6
ILC2s -	<i>Type 2 innate lymphoid cells</i>
IMC -	Índice de massa corporal
KS -	Kolmogorov-Smirnov
LAL -	<i>Limulus ameobocyte lysate</i>
LDL-c -	<i>Low density lipoprotein-cholesterol</i>
LPS -	Lipopolissacarídeo
M cell -	<i>Microfold cells</i>
M1 -	Macrófagos fenótipo M1
M2 -	Macrófagos fenótipo M2
MCT-1 -	<i>Monocarboxylate transporter-1</i>
MG -	Massa de gordura
MLG -	Massa livre de gordura
mmHg -	Milímetros de mercúrio
MMPs -	<i>Matrix metalloproteinases</i>
MMS -	Massa magra seca
NCD-RisC -	<i>Risk factors for non-communicable diseases</i>
NCEP/ATP III -	<i>National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III</i>
O ₂ -	Oxigênio
OMS -	Organização Mundial de Saúde
PAD -	Pressão Arterial Diastólica
PAI-1 -	<i>Plasminogen activator inhibitor-1</i>
PAM -	Pressão Arterial Média
PAS -	Pressão Arterial Sistólica
PCR -	Proteína C reativa
POF -	Pesquisa de orçamentos familiares
PSA -	Polissacarídeo A
RI -	Resistência à insulina
RNA -	<i>Ribonucleic acid</i>
SD -	<i>Standard deviation</i>

SM -	Síndrome Metabólica
T reg -	Linfócitos T reguladores
TAB -	Tecido adiposo branco
TAM -	Tecido adiposo marrom
TAV -	Tecido adiposo visceral
TCLE -	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFs -	<i>Transcription factors</i>
TGF- β -	<i>Transforming growth factor beta</i>
Th1 -	<i>Type 1 T Helper cell</i>
Th2 -	<i>Type 2 T Helper cell</i>
TLR -	<i>Toll-like receptors</i>
TNF- α -	<i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
TNF- β -	<i>Tumor necrosis factor-beta</i>
TSH -	<i>Thyroid stimulating hormone</i>
UI -	Unidades internacionais
VEGF -	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
VLDL-c -	<i>Very low-density lipoprotein-cholesterol</i>
WHO -	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Obesidade: epidemiologia e impactos na população pediátrica	13
1.2 Obesidade: alterações metabólicas, inflamação e imunidade.....	18
1.3 Microbiota intestinal e sua relação com permeabilidade intestinal e inflamação	25
1.4 Microbiota intestinal e Imunidade	27
1.5 Simbióticos e microbiota	29
2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE	32
3 OBJETIVOS.....	34
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	35
4.1 Delineamento do estudo.....	35
4.2 Métodos	37
4.3 Metodologia estatística	43
5 RESULTADOS	45
6 DISCUSSÃO.....	50
7 REFERÊNCIAS	54
8 ANEXOS.....	62

1 INTRODUÇÃO

1.1 Obesidade: epidemiologia e impactos na população pediátrica

Atualmente a obesidade é reconhecida como um dos principais problemas de saúde pública entre crianças e adolescentes. Com o incremento da massa de gordura, absoluto ou relativo, ocorre o aumento do índice de massa corporal, IMC: peso dividido pela altura ao quadrado (COMINATO, 2016). A Organização Mundial de Saúde – OMS (WHO CHILD GROWTH STANDARDS) estabelece que a obesidade na adolescência é considerada quando o IMC se encontra, pelas curvas de crescimento, acima de dois desvios padrão da média (≥ 2 Z-escore).

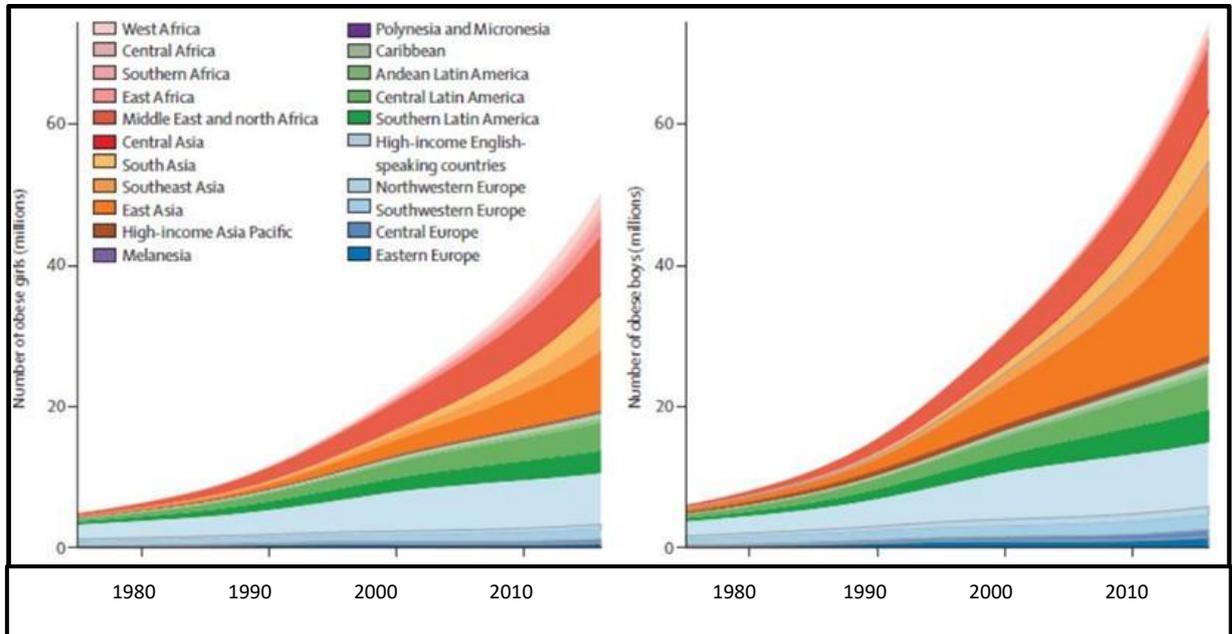
De forma simplificada, a obesidade é definida como uma desordem que se caracteriza pelo excesso de adiposidade ou de gordura corporal e que provém de um desequilíbrio entre a energia consumida e a gasta (GÜNGÖR, 2014). Todavia, evidências vêm se acumulando que a obesidade é produto de complexas interações entre: fatores genéticos, raciais, ambientais, condições socioeconômicas, fatores dietéticos, estilo de vida e até dados pós-natais como o nascimento por parto cesárea, o uso de antibióticos no período neonatal e o tipo de alimentação no início da vida (MILLIKEN, 2019; HO, 2018; MORAN, 2014).

Nos últimos 30 anos, houve um aumento substancial da prevalência da obesidade no mundo todo, sendo que, em 2014, foram classificados como obesos cerca de 600 milhões de adultos (11% do total de homens e 15% do total de mulheres). Esses números têm triplicado desde 1980 (PINEDA, 2018).

Entre crianças e adolescentes, a prevalência de obesidade vem aumentando exponencialmente. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2016), as taxas mundiais de obesidade entre crianças e adolescentes saltaram de 1% em 1975 para 6% entre as meninas e 8% entre os meninos em 2016 (NCD-RisC, 2017).

O maior estudo de base epidemiológica mundial sobre as taxas de baixo peso, sobrepeso e obesidade e que incluiu mais de 130 milhões de pessoas em todos os continentes demonstrou que o número de crianças e adolescentes obesos aumentou 10 vezes nas últimas quatro décadas. Além disso, evidenciou-se que, se essa tendência for mantida, existirão mais crianças e adolescentes obesos do que aquelas com baixo peso no ano de 2022 (NCD-RisC, 2017). É importante ressaltar que as taxas de obesidade entre crianças parecem ter atingido seu platô em

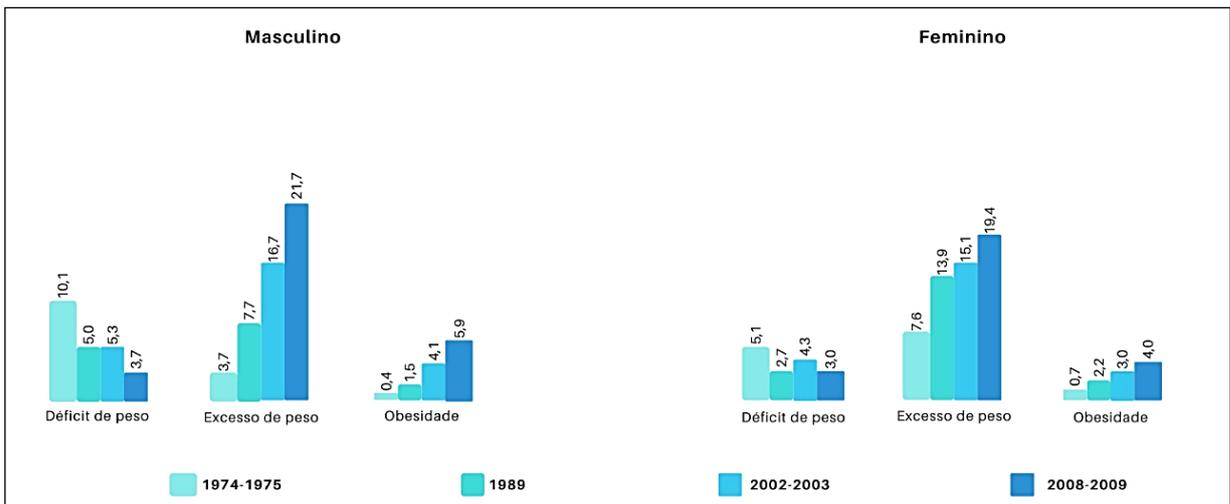
países desenvolvidos (representados pela cor azul na Figura 1), no entanto, mantêm tendência de aumento em países pobres ou em desenvolvimento (NCD-RisC, 2017 - Figura 1).



Fonte: NCD Risk Factor Collaboration, Lancet, 2017.

Figura 1 - Prevalência mundial de crianças e adolescentes obesos de 1980-2010

Em relação aos adolescentes, exclusivamente, separados por sexo, dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), demonstraram que, em relação ao censo de 1974-1975, a porcentagem de aumento da prevalência de sobrepeso, no sexo masculino, foi 17% e de 39% no feminino; e de obesidade a porcentagem de aumento da ocorrência foi de 6,7% nos do sexo masculino e de 17,5% no feminino (Figura 2).

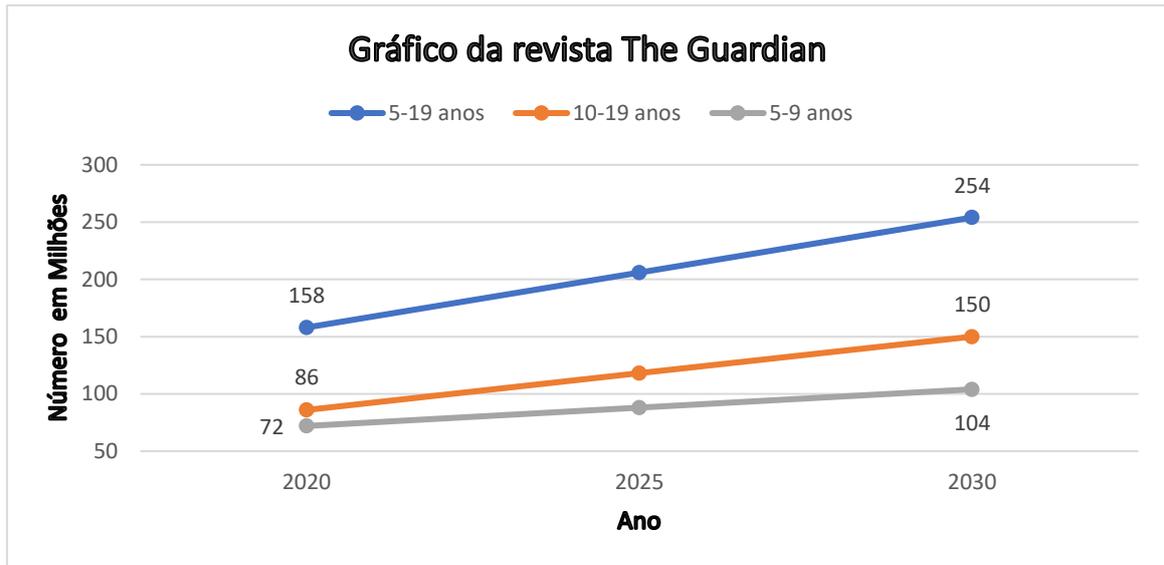


Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Estudo Nacional da Despesa Familiar 1974-1975 e Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009; Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição, Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição 1989. Prevalência de déficit de peso, excesso de peso e obesidade na população de 10 a 19 anos de idade, por sexo. Brasil - Períodos: 1974-1975, 1989, 2002-2003 e 2008-2009.

Figura 2 - Dados antropométricos na faixa etária de 10 a 19 anos, no Brasil, nos quatro últimos censos

Publicado no *European Journal of Clinical Nutrition* (2017), o projeto ERICA (Estudo de Riscos Cardiovasculares em Adolescentes), que ocorreu, do primeiro semestre de 2013 a novembro de 2014, com 70.000 adolescentes matriculados em escolas de 273 municípios brasileiros, entre 12 a 17 anos, de ambos os sexos (feminino 50,1% e masculino 49,1%), constatando-se que 18,5% estavam em sobrepeso e 9,9% destes estavam obesos (GIANNINI, 2017), o que supera os índices do censo de 2008-2009.

Segundo dados apresentados no *Global Atlas of Childhood Obesity* (World Obesity Federation, 2019), os índices de obesidade infantil são alarmantes e isso é atribuído, dentre outros fatores, ao erro alimentar estimulado pelo *marketing* de consumo de alimentos sem valor nutritivo e alto valor calórico, conhecidos como *junk foods*. Globalmente estima-se que, em 2030, a obesidade infantil alcance o número de 254 milhões de crianças em comparação aos dados já muito preocupantes de mais de 150 milhões de crianças nessa condição atualmente no mundo, um aumento alarmante de 60% de crianças e adolescentes obesos em apenas uma década (2020-2030). (*GLOBAL ATLAS OF CHILDHOOD OBESITY*, 2019 - Figura 3).



Fonte: Adaptado de *Global Atlas of Childhood Obesity*, 2019.

Figura 3 - Perspectiva do aumento das taxas de obesidade entre crianças e adolescentes no mundo

Além da elevada prevalência, acumulam-se evidências sobre os impactos da obesidade em inúmeros agravos de relevância de saúde pública, como o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (HAN, 2010) e diversos tipos de câncer (LAUBY-SECRETAN, 2016; FLEGAL, 2013). A obesidade é reconhecida, desde a década de 80, como um fator de risco independente para o desenvolvimento de desfechos cardiovasculares (HUBERT, 1983; BRAY, 2018).

Entre crianças e adolescentes, os impactos da obesidade vêm ganhando destaque, pois, embora algumas consequências levem anos para se manifestarem, outras apresentam efeitos imediatos que podem comprometer o desenvolvimento infanto-juvenil (LIFSCHITZ, 2015).

Em um artigo de revisão da literatura da década de 90 (MUST, 1999), foi demonstrado que, antes da idade adulta, crianças obesas podem apresentar complicações de caráter imediato, intermediário e duradouros.

Dentre as complicações imediatas, destacam-se: o risco de cálculos biliares, apneia do sono, hepatite, hipertensão intracraniana idiopática, problemas ortopédicos e baixos níveis de auto estima. Dentre as de caráter intermediário, há o desenvolvimento dos fatores de risco para doenças cardiovasculares como a elevação da pressão arterial, distúrbios metabólicos como a resistência à insulina (RI), dislipidemias e a persistência desse excesso de peso na vida adulta. A longo prazo, a obesidade na infância e adolescência está correlacionada com a maior morbidade e mortalidade na vida adulta por desfecho cardiovascular (coronariopatia) e câncer.

Outros estudos têm demonstrado associação entre obesidade na adolescência e manutenção dessa obesidade e suas consequências na vida adulta, como: acidente vascular cerebral, doença cardíaca isquêmica, hipertensão, diabetes e câncer com o maior risco de morte prematura (BIRO, 2010; REILLY, 2011; REINEHR, 2018). A obesidade está associada a uma série de comorbidades em adolescentes e crianças, conforme descrito por Raj, 2010 (Quadro 1):

Quadro 1 - Efeitos da obesidade em crianças e adolescentes

<ul style="list-style-type: none"> • Cardiovasculares Hipertensão Arterial Aterosclerose Hipertrofia ventricular esquerda • Endócrinas Resistência à insulina Diabetes Mellitus Alterações menstruais Síndrome do ovário policístico • Gastrintestinais Cálculos biliares Esteatose hepática Fibrose hepática Cirrose • Neurológicas Hipertensão intracraniana idiopática (pseudotumor cerebral) • Ortopédicas Tíbia vara Osteoartrite Epífise femoral de capital deslizada • Psicossociais Preocupação obsessiva com a imagem corporal Baixa autoestima Depressão • Pulmonares Apneia obstrutiva do sono Exacerbação da asma Embolismo pulmonar Síndrome de Pickwick • Renais Aumento da sensibilidade ao sódio Diminuição da natriurese Proteinúria Glomerulosclerose segmentar focal

Fonte: RAJ M, KUMAR RK. *Obesity in children & adolescents. Indian J Med Res*, v. 132, n. 5, p. 598-607, 2010.

Em um âmbito mais contemporâneo de investigação, tem-se dado grande ênfase à relação entre obesidade e inflamação, uma vez que ela pode explicar a gênese de distúrbios

como a síndrome metabólica, estados de RI e consequentes hipertensão e diabetes mellitus em todas as faixas etárias (SINGER, 2017; DE HEREDIA, 2012)

1.2 Obesidade: alterações metabólicas, inflamação e imunidade

O estudo da relação entre obesidade e suas comorbidades demonstra que não é o peso em si ou a gordura total que têm impacto no desenvolvimento de alterações metabólicas, mas sim o acúmulo de tecido adiposo em determinados segmentos corporais, em especial nas vísceras abdominais; aquela denominada de gordura visceral, abdominal ou central (WISSE, 2004). Pesquisas vinculadas ao *Framingham Heart Study* demonstraram que o volume de gordura visceral, avaliado por meio de tomografia computadorizada, estava associado com múltiplos fatores de risco metabólicos que levam à doença cardiovascular (DCV) (FOX, 2007; ROSITO, 2008; SPELIOTES, 2010). Ademais, vários outros estudos confirmaram essa observação (IACOBELLIS, 2003, WHEELER, 2005, IACOBELLIS, 2008).

Existe uma grande heterogeneidade do ponto de vista metabólico entre os depósitos de tecido adiposo subcutâneo e visceral. O tecido adiposo visceral (TAV) é um órgão composto por adipócitos firmemente apoiados em tecido conectivo com uma densa rede de capilares que inclui células-tronco, pré-adipócitos, fibroblastos, células endoteliais e células imunes (TRAYHURN, 2013) e que apresenta diferenças em relação ao subcutâneo tanto em função quanto na histologia. O seu maior componente é o tecido adiposo branco (TAB), que consiste principalmente de adipócitos grandes e esféricos, responsáveis pelo armazenamento de ácidos graxos (AG) que são liberados quando ocorre um balanço negativo de energia, como no jejum. Em contraste, o tecido adiposo marrom (TAM) apresenta funções relacionadas ao gasto energético em neonatos e que, com o crescimento, involuiria até a idade adulta, mas recentemente foi demonstrado que há tecido adiposo marrom funcional em adultos, o que mudou esse paradigma (VAITKUS, 2017).

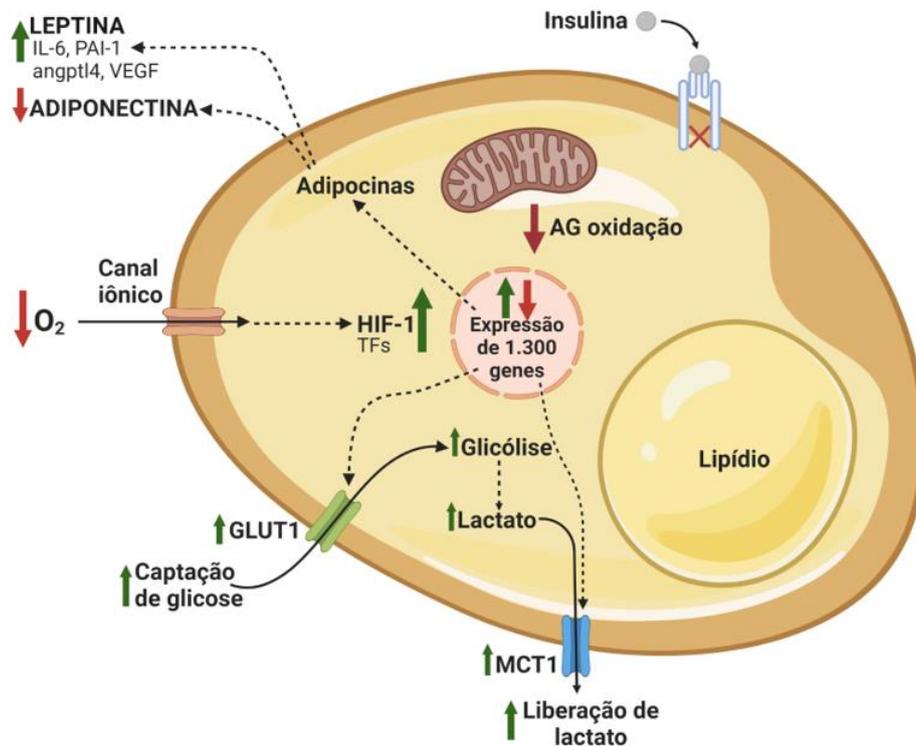
O TAB sintetiza e secreta inúmeros peptídeos bioativos, chamados adipocinas (que podem ou não ser citocinas), que possuem atividades endócrinas, autócrinas e parácrinas (PRADO, 2009) com funções modulatórias da inflamação que, no obeso, são associadas ao desenvolvimento de lesão vascular e ao risco metabólico. Além disso, o tecido adiposo visceral abdominal é mais responsivo à ação de catecolaminas e de outros hormônios, bem como a

estímulos do sistema nervoso central (KERSHAW, 2004; DESPRÉS, 2006; RIBEIRO-FILHO, 2006).

Nesse contexto, há outro aspecto que regula a inflamação do tecido adiposo que é o nível de hipóxia tecidual. Há evidências que, à medida que o tecido adiposo se expande patologicamente, como na obesidade, a angiogênese local não acompanha essa expansão, ocorrendo inadequado suprimento de sangue e de oxigênio (O₂), levando à hipóxia tecidual local (ENGIN, 2017).

Mediante baixo fluxo de sangue no tecido adiposo branco (TAB), esse se adapta funcional e metabolicamente, sob a regulação da expressão de cerca de 1.300 genes. Esses genes sofrem ação do fator de regulação de transcrição HIF-1 alfa (*Hypoxia-inducible factor*) e de outros fatores de transcrição que estimulam a secreção de uma série de adipocinas pró-inflamatórias que configuram a base para a resposta inflamatória (TRAYHURN, 2013).

Na obesidade, ocorre uma micro inflamação decorrente da baixa tensão de O₂ que ocorre na maioria dos adipócitos hipertrofiados. Essa hipóxia nos adipócitos resulta no aumento da secreção de adipocinas, como a interleucina 6 (IL-6), de metaloproteinases (MMPs), do inibidor-1 do ativador do plasminogênio (PAI-1), da produção de leptina, do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e diminui a produção de adiponectina, o que se relaciona com a ativação da inflamação. Tais alterações levam também à glicólise anaeróbica e isso acarreta maior liberação do lactato, impactando no aumento do estímulo inflamatório nos macrófagos e induzindo a RI no músculo esquelético. (Figura 4- TRAYHURN, 2013).



AG (Ácidos graxos), IL-6 (Interleucina-6), PAI-1 (inibidor do ativador de plasminogênio-1), ANGPTL-4 (Proteína-4 semelhante à Angiopietina), VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular), O₂ (Oxigênio), HIF-1 (Fator-1 induzível por hipóxia), TFs (fatores de transcrição) GLUT-1 (Transportador de glicose-1), MCT-1 (Transportadores de monocarboxilatos -1)

Fonte: Adaptado de TRAYHURN, P. *Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity*. *Physiol. Rev.*, v. 93, p. 1-21, 2013.

Figura 4 - Efeitos da hipóxia tecidual nas funções da célula adiposa branca

A obesidade, especialmente a visceral, vem sendo correlacionada a alterações metabólicas e, em 2001, passou a ser conceituada como Síndrome Metabólica (SM) pelo *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III* (NCEP: ATP III). Tal consenso caracteriza a SM como a combinação de três a cinco dos seguintes fatores: hiperglicemia, hipertrigliceridemia, obesidade central, hipertensão arterial e baixa de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (MAGGE, 2017). Discute-se, na literatura, se a SM representa somente um aglomerado (*cluster*) de fatores de risco ou se há uma relação causal entre os seus componentes. O não consenso sobre esse ponto decorre da observação de que alterações em cada um dos componentes de forma individual pode acarretar distúrbios nos outros sistemas de regulação e, assim, desenvolver todo o conjunto que se denomina SM.

Na SM ocorre um estado inflamatório de baixo grau (subclínico), mas de caráter crônico, que vem se caracterizando como um componente mais robusto da sua fisiopatogênese (FESTA, 2000) e está relacionado com o aumento de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), resistina, proteína C reativa (PCR) e com a IL-6 (ECKEL, 2005).

A consideração da complexa interação entre obesidade, hipóxia, inflamação e alterações metabólicas também ganha relevância entre crianças e adolescentes. A prevalência da SM em crianças e adolescentes está aumentando, paralelamente às tendências crescentes nas taxas de obesidade (AL-HAMAD, 2017). Em um estudo clássico publicado no *New England*, foi evidenciado que a prevalência de SM é maior em crianças e adolescentes obesos, quando comparados aos eutróficos, e ainda que, quanto maior o grau de obesidade, maior será a prevalência da SM. Além disso, o mesmo estudo demonstrou que biomarcadores de risco cardiovascular como proteína C reativa ultrasensível, IL6, insulina e outros já estavam presentes e em níveis aumentados nesses jovens (WEISS, 2004).

Outro estudo realizado com adolescentes dinamarqueses obesos demonstrou que eles apresentavam valores significativamente mais elevados de pressão arterial, insulina sérica, índice HOMA, peptídeo C, colesterol total, lipoproteína de baixa densidade (LDL-c), triglicerídeo, proteína C reativa (PCR), IL6, TNF- α e menores valores de HDL-c, em comparação com adolescentes com peso normal (GØBEL, 2012). A detecção precoce da SM na adolescência e a intervenção com mudança de estilo de vida é essencial para a não progressão dessas alterações, o que deve, provavelmente, reduzir a morbidade e mortalidade na idade adulta por desfecho primário cardiovascular e diabetes tipo 2 (ZIMMET, 2007).

Na obesidade, o TNF- α tem também papel comprovado no desenvolvimento da resistência dos tecidos à insulina, DM2 e aumento do tônus simpático (DAS, 2011). Em relação ao metabolismo da glicose, nos indivíduos obesos, existe a relação inversa da glicose com o TNF- α , pois esse suprime a expressão da insulina. Com o aumento do TNF- α , ocorre a redução da síntese e da translocação do transportador de glicose (GLUT) para a membrana celular e, assim, decorre a diminuição da glicose captada pelas células por meio da ação da insulina. Com a diminuição da sensibilidade à insulina, há um aumento da glicogênese hepática, diminuição do *clearance* da glicose pelo tecido adiposo e pelo músculo esquelético, conseqüente aumento dos níveis de glicose circulantes e hiperinsulinemia. (VOLP, 2008).

A IL-6 também é uma citocina com ação pró-inflamatória associada com obesidade, estados de RI e hiperinsulinemia na SM. Pode ser considerada como citocina endócrina, pois

seu foco de ação se localiza distante do local de liberação e, dessa forma, seus efeitos se correlacionam com suas concentrações plasmáticas (WISSE, 2004).

Semelhante ao TNF- α , a IL-6 é secretada tanto por adipócitos como por macrófagos do tecido adiposo e seus níveis circulantes aumentam conforme o nível de adiposidade corporal. Estímulos hormonais (insulina e glicocorticoides), neural (inervação simpática) e parácrinos (TNF- α e IL1- β) têm sido relacionados com o aumento na produção e secreção da IL-6 (WISSE, 2004). A expressão e secreção dessa citocina é 2 a 3 vezes maior nos depósitos de gordura visceral do que nos subcutâneos (FAIN, 2004). Estudos demonstram que os níveis de IL-6 estão aumentados em hipertensos e em indivíduos com a RI (DAS, 2011; BAUTISTA, 2005; FERNANDEZ-REAL, 2001).

Recentes evidências demonstram que a obesidade visceral, em todas as faixas etárias, e o estado de inflamação subclínico de baixo grau não dependem apenas da liberação de adipocinas pró-inflamatórias, mas também de mecanismos de células imunes presentes no tecido adiposo (REVELO, 2014). Tais mecanismos são aparentemente sustentados por um desequilíbrio na população e na ação de células imunológicas de caráter anti-inflamatório e pró-inflamatório (MAGRONE, 2015). Alterações imunológicas presentes na obesidade humana estão sintetizadas no Quadro 2:

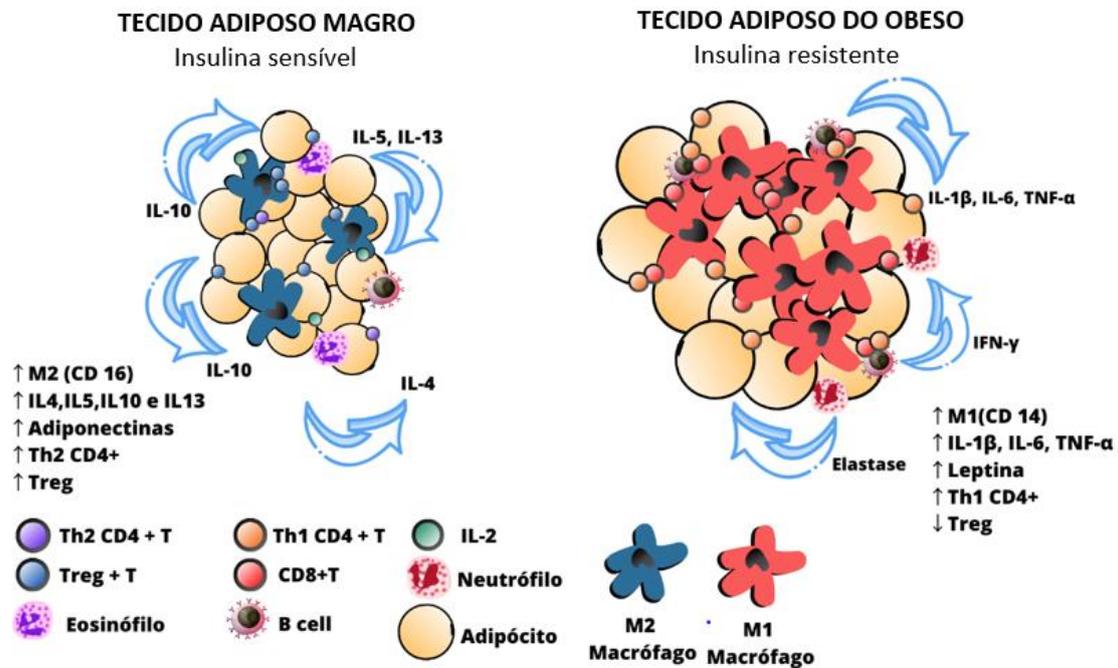
Quadro 2 - Alterações da imunidade inata e adaptativa na obesidade

- O tecido adiposo visceral produz citocinas pró-inflamatórias que são responsáveis pela resistência à insulina
- Associações positivas entre os níveis de proteína C reativa e IL6 com o risco de desenvolvimento de diabetes do tipo 2
- Macrófagos M1 com fenótipo pró-inflamatório vêm sendo encontrados no tecido adiposo visceral de pessoas obesas
- Linfócitos T reguladores (Linf T reg), anti-inflamatórios, estão diminuídos em pessoas com obesidade

Fonte: Adaptado MAGRONE, T.; JIRILLO, E. *Childhood obesity: immune response and nutritional approaches*. *Front Immunol.*, v. 6, p. 76, 2015.

Nos indivíduos magros, o tecido adiposo visceral marca pela presença de linfócitos T reguladores (T reg), células CD4⁺Th2, eosinófilos e células linfoides inatas tipo 2 (ILC2s) e pela secreção de citocinas como a IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, que levam à polarização dos macrófagos no TAV para um fenótipo M2 com ação anti-inflamatória. Enquanto que, nos

obesos, o TAV hipertrofiado tem predominante a presença dos linfócitos T CD8⁺ e linfócitos CD4⁺ Th1, que secretam interferon gama (IFN γ), favorecendo a polarização dos macrófagos para um fenótipo M1 e produzindo citocinas com ação pró-inflamatória, incluindo IL-1 β , IL-6 e TNF- α (REVELO, 2014) (Figura 5).



M1: macrófagos fenótipo M1, M2: macrófagos fenótipo M2, CD: *Cluster of differentiation*, TNF- α : fator de necrose tumoral alfa, Th₁: linfócitos T *helper* 1, Th₂: linfócito T *helper* 2, IL: interleucinas, IFN- γ : interferon gama, T reg: linfócitos T reguladores

Fonte: Adaptado de REVELO, X. S. *et al. Morphological and inflammatory changes in visceral adipose tissue during obesity, Endocr. Pathol.*, v. 25, n. 1, p. 93-101, 2014.

Figura 5 - Alterações morfológicas e funcionais do tecido adiposo visceral durante a obesidade

Os monócitos são leucócitos mononucleares circulantes que se originam e se diferenciam na medula óssea, entram na circulação sanguínea e, posteriormente, migram para os tecidos atuando na homeostase e resposta imune. Nos tecidos, os monócitos se diferenciam em células dendríticas (CDs), macrófagos ou osteoclastos e, no sangue periférico humano, apresentam-se como três subpopulações funcionalmente diferentes de monócitos: os clássicos, não clássicos e intermediários e que são identificados e caracterizados conforme a expressão dos marcadores de superfície: CD14 e CD16. Células que expressam CD14 sozinho são os monócitos clássicos (CD14⁺⁺ CD16⁻), são cerca de 90% do total dos monócitos circulantes no sangue. Os monócitos que expressam CD16 podem ser ainda divididos em duas subpopulações

distintas: monócitos não clássicos que expressam baixos níveis de CD14 e altos níveis de CD16 (CD14⁺ CD16⁺⁺) e monócitos intermediários que expressam níveis relativamente altos de CD14 e alguns CD16 (CD14⁺⁺CD16⁺) (ANBAZHAGAN, 2014).

Os monócitos clássicos humanos (CD14⁺⁺CD16⁻) expressam genes responsáveis pela angiogênese, cicatrização, coagulação e fagocitose como também estão relacionados à produção de altos níveis de IL-10 e baixos níveis de TNF- α em resposta à presença do lipopolissacarídeo (LPS), uma endotoxina encontrada na membrana externa de bactérias gram-negativas (YANG, 2014). Enquanto os monócitos humanos intermediários (CD14⁺⁺CD16⁺) exibem função inflamatória e maior capacidade de produzir IL-6, IL-1 β e TNF α em resposta ao LPS (CROS, 2014), os monócitos não clássicos humanos (CD14⁺CD16⁺⁺) patrulham e inspecionam o endotélio (SPRANGERS, 2016) e liberam IL-1 β e TNF- α em resposta a viroses e em doenças autoimunes (CROS, 2010). As subpopulações dos monócitos humanos estão descritas no Quadro 3.

Quadro 3 - Subpopulações dos monócitos humanos

Subpopulação	Marcadores	Função	Ação
Clássico	CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻	Fagocitose	↑IL-10, ↓TNF- α
Intermediário	CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺	Pró-inflamatórios	↑IL-6, IL-1 β e TNF α
Não clássico	CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺	Inspeciona Endotélio	↑ IL-1 β e TNF α

Fonte: CROS, J., *et al.* Human CD14^{dim} monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity*. v. 33, n.3, p. 375–386. 2010 e SPRANGERS, S., VRIES, T. J. de, EVERTS, V. Monocyte Heterogeneity: Consequences for Monocyte-Derived Immune Cells. *Journal of Immunology Research*, v. 2016, p. 1–10, 2016.

A obesidade e suas consequências vêm sendo relacionadas ao desequilíbrio na estrutura e/ou função de microbiota, o que gera alteração na homeostase do hospedeiro-microrganismos (disbiose) e afeta a permeabilidade intestinal, contribuindo para um certo grau de inflamação local e sistêmica (COX, 2015; WEST, 2015). Assim, objeto de muitos estudos atuais é a busca da compreensão dos caminhos pelos quais a disbiose gera o ganho de peso e o ganho de peso desregula a microbiota.

1.3 Microbiota intestinal e sua relação com permeabilidade intestinal e inflamação

O ambiente intestinal sadio assegura mecanismos de defesa da translocação de substâncias tóxicas e microrganismos intestinais do lúmen para a corrente sanguínea. Em indivíduos saudáveis, a prevenção dessa translocação intestinal é garantida pela barreira intestinal, por meio de estruturas como: membranas dos enterócitos, secreção de muco e por mecanismos de defesa imune na parede intestinal (SEKIROV, 2010).

Adicionalmente há as *tight junctions*, que são um complexo multiproteico composto por proteínas de adesão como: ocludina, claudina e a zonulina, que junto à actina e miosina recebem o nome de zônula occludens (FICEK, 2017) e que ligam as células dando integridade à barreira epitelial, protegendo da translocação intestinal (AWAD, 2017), mantendo a permeabilidade paracelular que impede a difusão de solutos e fluídos (BAUMGART, 2002) e, associada ao tecido linfóide do trato gastrointestinal (GALT) e à rede neuroendócrina, regulam o equilíbrio da resposta imune/tolerância (FASANO, 2011).

Parte da barreira intestinal é também devida à presença de milhares de microrganismos, que interagem de forma simbiótica com o hospedeiro, na sua maioria bactérias que, no seu coletivo, são conhecidos como microbiota intestinal (AWAD, 2010).

Por estudos de sequenciamento genético das espécies bacterianas intestinais, estas podem ser enquadradas em cinco principais filos, que seguem com os gêneros bacterianos mais relevantes que os representam: Firmicutes (Ruminococcus, Clostridium, Lactobacillus), Bacteroidetes (Bacteroides, Prevotella), Actinobacteria (Bifidobacterium), Proteobacteria (Escherichia) e Verrucomicrobia (Akkermansia), sendo que os filos Bacteroidetes e Firmicutes dominam 90% das espécies da microbiota humana (TREMAROLI, 2012; ARUMUGAM, 2011).

As composições bacterianas em cada indivíduo são distintas e definidas em parte pela genética e outras determinadas por características individuais e ambientais, como o status nutricional da mãe (malnutrida, obesa), exposição a antibióticos pela mãe ou criança, tipo de parto ao nascimento (parto normal ou cesariana), idade gestacional (prematividade ou se nascido a termo), hábitos alimentares (tipo de aleitamento, início da introdução da alimentação complementar), que resultam em uma grande variabilidade intra e interindividual dessa microbiota até os 3 anos de vida e que vai se estabelecer, na sua maioria, para toda a vida (PENDERS, 2006; AGOSTONI, 2015).

Ao longo das últimas décadas, estudos em animais e seres humanos têm identificado associações entre microbiota intestinal, metabolismo do hospedeiro e obesidade. Estudos similares aos de adultos demonstram diferenças na composição da microbiota intestinal de crianças com excesso de peso comparada com as magras (KOLEVA, 2015).

Bäckhed *et al* (2004) publicaram um estudo que relacionava microbiota e o desenvolvimento de obesidade, ao transplantarem a microbiota de ratos adultos para o de ratos com intestino livre de germes (GF= *Germ free*). A consequência tardia desse procedimento foi o ganho de mais massa e de peso corporal nos ratos GF recolonizados, a despeito da redução do consumo de alimentos por esses. Os autores postularam nesse estudo que a microbiota transplantada provocou, nos ratos GF, absorção excessiva da dieta e consequente acúmulo calórico, logo, uma condição favorecedora do ganho de peso.

A microbiota intestinal comensal desempenha um papel importante na manutenção da saúde e a alteração dessa tem sido relacionada à obesidade e à RI (MAFRA, 2014). Ela exerce um papel significativo na patogênese da SM por meio da modulação de absorção de energia, motilidade intestinal, apetite, metabolismo da glicose e dos lipídios e armazenamento de gordura hepática (FESTI, 2014).

Foi constatado que há diferença da microbiota entre indivíduos obesos e magros. Ley *et al* (2005) observaram que camundongos obesos apresentavam alteração da relação Firmicutes/Bacteroidetes (F/B), em que ocorria significativo aumento na proporção de Firmicutes e redução dos Bacteroidetes quando comparados a controles eutróficos. Em 2006, Ley *et al*, avaliaram que em humanos obesos também ocorria a menor proporção de Bacteroidetes em comparação com eutróficos e que, com uma dieta baixa em calorias e a perda de peso, a proporção de Firmicutes decrescia e a proporção F/B tornava-se mais parecida com a dos indivíduos magros.

Outros estudos também relacionam o desequilíbrio da microbiota intestinal na obesidade com o tipo de alimentação (STEPHENS, 2018) e que essa disbiose pode aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias, induzindo a doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) (FESTI, 2014).

Segundo Khan *et al* (2016), nos indivíduos obesos é a baixa diversidade da composição da microbiota intestinal, em relação à dos humanos magros, que leva a uma baixa funcionalidade dessa, acarretando baixo grau de inflamação que pode ser modulado pela dieta.

Segundo Leite (2017), a disbiose pode ser fortemente associada com:

- A ruptura da barreira epitelial intestinal;
- Translocação bacteriana;
- Endotoxemia metabólica (causada pelo LPS);
- Aumento dos níveis de citocinas pró-inflamatórias no plasma como: TNF- α , interleucina1 β (IL-1 β) e IL-6.

A disbiose estabelece, no indivíduo, a disfunção da barreira epitelial intestinal com alteração de sua permeabilidade e está relacionada com a depleção ou diminuição, na junção das células epiteliais, dessas proteínas de adesão e consequente diminuição da resistência transepitelial. Dessa forma, pode ocorrer o aumento da resposta inflamatória devido ou à translocação dos microrganismos patogênicos ou à presença do LPS, conhecido como importante ativador de resposta imunológica (NUSRAT, 2000; CANI, 2007; ICHII, 2014).

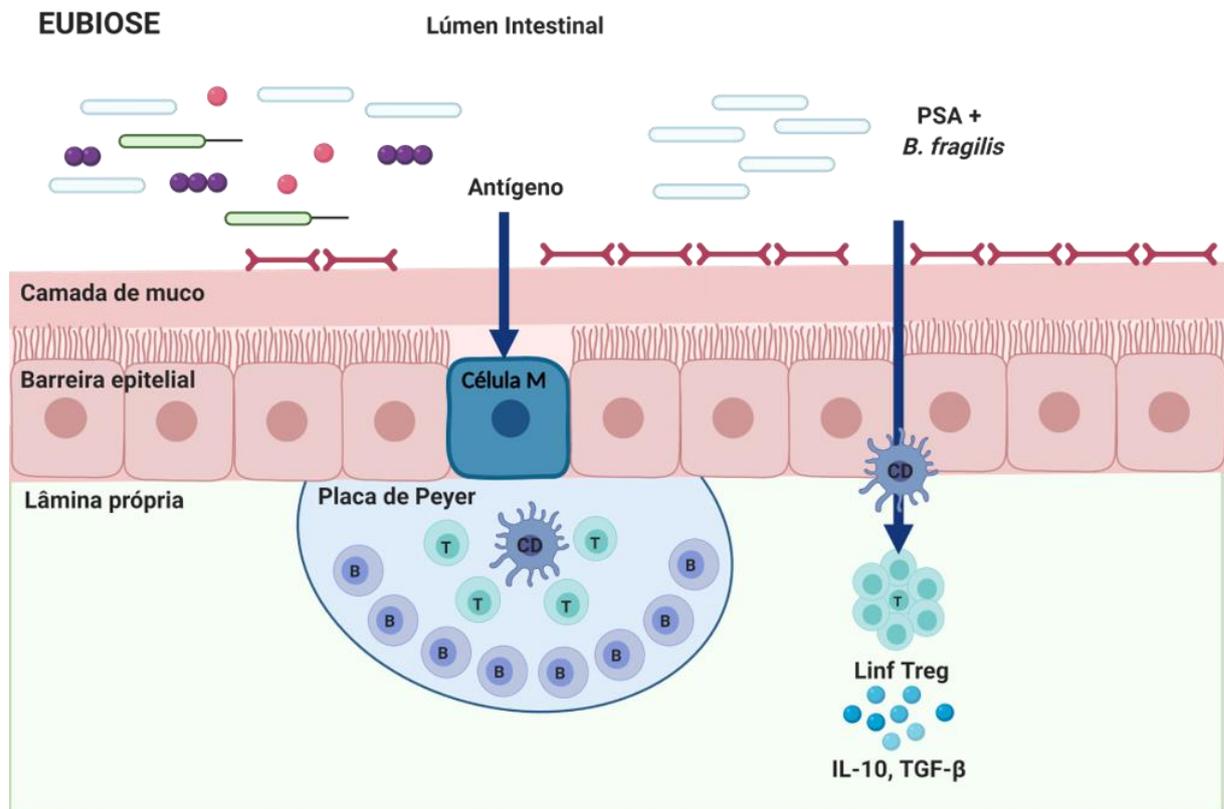
A Zonulina regula as *tight junctions* do enterócito (CAMARA-LEMARROY, 2019) e tem sido considerada como um marcador de diagnóstico de permeabilidade intestinal, sendo encontrada elevada no sangue de pacientes com sintomas de infecção ou inflamação intestinal (TARKO, 2017) e se mostrou aumentada no soro de indivíduos com obesidade (ZAK-GOLAB, 2013). Estudo com crianças obesas com índice de massa corporal (IMC) no percentil >95, pareadas por idade e sexo com crianças saudáveis, demonstrou que os níveis de Zonulina na circulação foram maiores em crianças obesas (KUME, 2017), evidenciando um distúrbio de permeabilidade intestinal e disbiose, o que contribui para ativação de resposta inflamatória local e sistêmica (MAFRA, 2014; VERDAM, 2013). A disbiose pode alterar a resposta imune e causar doenças mediadas pela imunidade, mesmo distantes do intestino e pode resultar em diabetes do tipo I, dermatite atópica, câncer e asma (MAYNARD, 2012; AHMADI, 2017).

1.4 Microbiota intestinal e Imunidade

○ Microbiota e células T

A microbiota comensal, por apresentar maior diversidade de filos, beneficia o hospedeiro mantendo uma homeostase intestinal. Agregados ao intestino, há o principal subtipo de célula da imunidade celular, os linfócitos T reguladores (T reg), que sofrem ação da microbiota para se diferenciarem em seus subconjuntos (de OLIVEIRA, 2017). Estudos relacionam a diminuição das células Th17 no intestino de ratos adultos tratados com antibióticos (GF), reforçando a existência de processos intrínsecos da mucosa/microbiota

intestinal em regular essas células imunes (de OLIVEIRA, 2017). Em contrapartida, a colonização de ratos GF com *Bacteroides fragilis* – produtor capsular de polissacarídeo A (PSA) – induz à diferenciação de células T CD4⁺ em células T reg- FoxP3⁺, a qual secreta IL-10, citocina anti-inflamatória, mediando a tolerância da mucosa intestinal (ROUND, 2010), restringindo a inflamação local e sistêmica (RAMAKRISHNA, 2019), conforme esquema da Figura 6.



PSA: polissacarídeo A, Células M: células micro fenestradas, CD: células dendríticas, T: linfócitos T, B: linfócitos B, T reg: Linfócitos T reguladores (FOXP3), IL-10: interleucina 10, TGF-β: fator de transformação do crescimento beta

Fonte: Adaptado: de Oliveira, G. L. V. *et al.* *Intestinal dysbiosis and probiotic applications in autoimmune diseases*. *Immunology*. v. 152, n. 1, p. 1-12, 2017. Representação da interação da microbiota comensal e sistema imune. O *Bacteroides fragilis* induz os linfócitos T a se diferenciarem de CD4⁺ em linfócitos T reg (FoxP3⁺) e secretarem citocinas anti-inflamatórias.

Figura 6 - Esquema representativo da interação da microbiota intestinal e sistema imune

Os linfócitos CD3⁺ CD4⁺ têm um papel na regulação da resposta imune por meio da sinalização de citocinas (produzidas durante a fase de ativação e fase efetora da imunidade) para mediar e regular a resposta inflamatória e imunitária. Tais citocinas são enquadradas em diversas categorias como: interferon (IFN), interleucinas (IL), fator estimulador de colônias (CSF), fator de necrose tumoral (TNF- α e TNF- β) e fator de transformação de crescimento beta (TGF- β) (SHAW, 2018).

Por sua vez, as células T reguladoras (T reg) têm sido associadas ao controle de processos inflamatórios, Westerholm-Ormio *et al* (2010) demonstraram que os linfócitos T reg-FoxP3⁺ controlaram a inflamação intestinal da mucosa de pacientes com alergia alimentar e se encontram aumentados nesses indivíduos. Estudos em população adulta têm relacionado menor presença de linfócitos T reg em obesos e em crianças obesas com SM, em relação aos seus pares magros, sugerindo a relação obesidade/desregulação imune (DONMA, 2015). Quando ocorre a depleção dos linfócitos T reg, há a indução da expansão anormal dos linfócitos T CD4⁺ expressando receptores de células T contra microbiota comensal, o que resulta em inflamação intestinal (de OLIVEIRA, 2017).

Além da relação da disbiose e linfócitos T, o estado de imunidade pode ser alterado por influência externa como a alimentação modulando a microbiota intestinal, pois indivíduos que ingerem dieta com alto teor de gordura apresentam um grande reservatório de Lipopolissacarídeos que, como já referido, atuam como antígeno estimulando o sistema imune do hospedeiro (CANI, 2007). O LPS se liga ao complexo CD14⁺ e ao TLR4 (*Toll-Like Receptors*) das células imunes inatas, funcionando como gatilho para síntese de citocinas pró-inflamatórias pelas células do sistema imune, como também pelo tecido adiposo, promovendo uma endotoxemia metabólica (CARICILLI, 2011) e desencadeando reações pró-inflamatórias e consequentes distúrbios metabólicos como a RI, obesidade e DM2 (MORAES, 2014).

1.5 Simbióticos e microbiota

A Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos define os probióticos como “micro-organismos vivos os quais administrados em quantidades adequadas conferem benefícios comprovados à saúde do hospedeiro” (HILL, 2014). Portanto, para conceder esses objetivos, tais micro-organismos devem estar estáveis e viáveis desde o início da produção até seu consumo e passagem pelo trato gastrointestinal.

Prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam, seletivamente, o crescimento e/ou a atividade de uma ou mais bactérias probióticas. Já um produto que contenha probióticos e prebióticos em sinergismo é o chamado simbiótico (LENFESTEY, 2017), em que a associação com um prebiótico viabiliza o probiótico.

As principais bactérias utilizadas como probióticos são as dos gêneros *Lactobacilos*, *Bifidobactérias* e *Saccharomyces boulardii* e que são apresentadas como suplementos em leites fermentados, iogurtes e produtos farmacológicos (SILVA, 2015). O mecanismo pelo qual exercem seus efeitos favoráveis são: competição no intestino contra as bactérias patogênicas pelos locais de ligação (exclusão competitiva), concorrência pelos nutrientes disponíveis, produção de ácidos orgânicos que reduzem o pH local dificultando o crescimento de bactérias oportunistas, supressão desses patógenos por meio da produção de compostos antibacterianos, gerando, desta forma, a proteção da barreira intestinal (HEGAZY, 2010; FLESCHE, 2014) e participando da ativação do sistema imune (GAREAU, 2010).

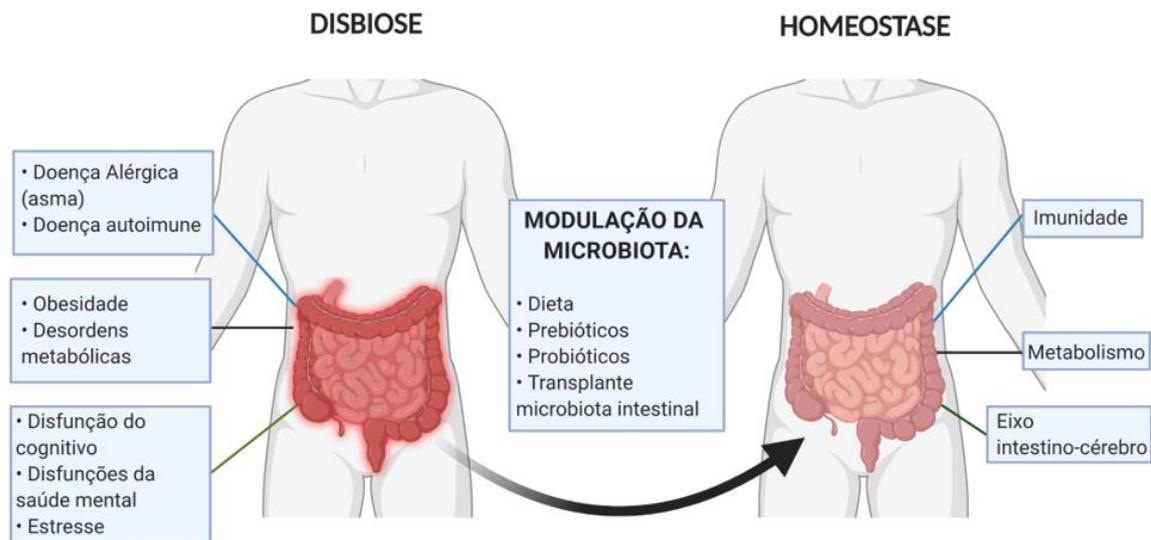
Estudos têm sido voltados para os benefícios do uso de probióticos/ prebióticos/ simbióticos no tratamento e prevenção de patologias alérgicas como eczema, alergia alimentar, atopia, doenças respiratórias (FORSBERG, 2016), enterite necrotizante, doença inflamatória intestinal, síndrome do cólon irritável, constipação intestinal, doença diarreica, autismo (LENFESTEY, 2017) e na obesidade (STEPHENS, 2018).

A literatura refere adicionalmente a indicação de uso de prebióticos / simbióticos em indivíduos obesos, sendo que o efeito em adultos e crianças diferem. Em adultos a suplementação demonstra redução no peso enquanto em crianças está relacionado ao menor ganho de peso (DROR, 2017). A intervenção em adolescentes obesos por no mínimo 8 semanas com um composto de múltiplas cepas probióticas reduz o peso corporal em comparação ao grupo de cepa única e período menor de intervenção (MOHAMMADI, 2019).

Essas ações são atribuídas à capacidade desses em agir no epitélio do intestino delgado ativando a imunidade inata (GALDEANO, 2007) e adaptativa do hospedeiro (ATHIYYAH, 2019). Os simbióticos, de um modo geral, estimulam o sistema imune pela ativação dos linfócitos T, aumentam a circulação de citocinas e ativam a fagocitose (YOUSEFI, 2019). Entretanto, os mecanismos de ação pelos quais os probióticos beneficiam o hospedeiro diferem de acordo com a cepa probiótica utilizada: estudos sugerem que o *L. casei* tem papel anti-inflamatório na mucosa por meio da indução da expansão do CD4⁺ e T reg (FoxP3⁺); *L. acidophilus* e *B. longum* associados aumentam a expressão dos linf T reg e reduzem o número de linfócitos intra epiteliais em colites induzidas e algumas outras cepas regulam as células

dendríticas na expansão de CD4⁺ e linf T reg (FoxP3⁺) nos sítios de inflamação (GAREAU, 2010).

Atualmente tem aumentado o interesse no uso de probióticos, prebióticos e simbióticos em pacientes pediátricos com a finalidade de modular a microbiota intestinal, como relatado em casos de gastroenterite viral aguda (CARDILE, 2016). É referido em adultos tratamento de disbiose por meio de transplante de microbiota intestinal ou transplante fecal (WEST, 2015) conforme Figura 7:



Fonte: Adaptado de WEST, C. E. *et al. The gut microbiota and inflammatory non-communicable diseases: Associations and potentials for gut microbiota therapies. J, Allergy Clin, Immunol.*, v. 135, n. 1, p. 3-13, 2015. Disbiose é o desequilíbrio da microbiota que conduz à ruptura da homeostase com o hospedeiro e que está relacionada a doenças alérgicas e autoimunes, desordens metabólicas, distúrbios cognitivos, disfunções da saúde mental e estresse. A disbiose influencia desordens em diversos sistemas e há a necessidade de estratégias para modular a microbiota e restabelecer a homeostase do organismo.

Figura 7 - Relação disbiose e doenças de base imunológica e impactos da modulação da microbiota

2 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

2.1 Justificativa

A epidemia mundial de obesidade também abrange crianças e adolescentes, podendo ter impacto nessa faixa etária com complicações como as doenças crônicas não transmissíveis e o aumento da prevalência da SM nos adolescentes com excesso de peso.

A inflamação crônica é um mecanismo fisiopatológico comum no desenvolvimento dos distúrbios característicos procedentes da obesidade.

Há também a necessidade da compreensão da importância do papel da microbiota intestinal, como moduladora da atividade inflamatória e imune do indivíduo. Assim se justificam estudos que venham ampliar o entendimento sobre a interação desses elementos e que busquem estratégias terapêuticas, principalmente não medicamentosas, como tratamento coadjuvante para minimizar os efeitos da obesidade.

Os simbióticos, de uso rotineiro na prescrição médica, associados ao uso de antibióticos e no tratamento coadjuvante dos quadros de diarreia (por ter sua ação na estabilização da microbiota intestinal) têm consequente ação na manutenção da estabilidade da permeabilidade intestinal, resultando no equilíbrio imune e na liberação de citocinas anti-inflamatórias. Essas ações podem amenizar o estado inflamatório e interferir, de modo benéfico, nos distúrbios metabólicos associados à obesidade.

2.2 Hipótese

Os adolescentes obesos apresentam biomarcadores pró-inflamatórios aumentados, o que os leva a permanecer em um estado de inflamação crônica. Esses apresentam também uma microbiota intestinal alterada, devido ao consumo excessivo de alimentos ricos em gordura e açúcares e, conseqüentemente, essa disbiose rompe a permeabilidade intestinal e libera biomarcadores de imunidade e citocinas pró-inflamação que agravam o estado inflamado em relação aos adolescentes eutróficos.

O uso de simbióticos em adolescentes obesos pode contribuir para recompor a microbiota intestinal saudável e, assim, restabelecer a permeabilidade intestinal e consequente produção de biomarcadores anti-inflamatórios, levando à redução da inflamação sistêmica.

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar biomarcadores de inflamação, de permeabilidade intestinal e células de imunidade em adolescentes obesos.

Objetivos Específicos

1. Comparar adolescentes eutróficos com adolescentes obesos sem intervenção quanto a parâmetros clínicos, metabólicos, de biomarcadores de inflamação e de permeabilidade intestinal.
2. Avaliar em adolescentes obesos os efeitos da administração de simbiótico por 60 dias nos parâmetros clínicos, de biomarcadores de inflamação e de permeabilidade intestinal.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Fase 1 - Estudo prospectivo transversal com amostra de conveniência, comparando adolescentes obesos e eutróficos quanto aos parâmetros antropométricos e de composição corporal, metabólicos, células de imunidade, biomarcadores inflamatórios e de permeabilidade intestinal.

Fase 2 - Estudo clínico prospectivo com intervenção para avaliar o efeito pré e pós uso de simbiótico (Simbioflora®), por 60 dias, sobre os parâmetros antropométricos e de composição corporal, células de imunidade, biomarcadores inflamatórios e de permeabilidade intestinal.

Casuística

Foram entrevistados 70 jovens que demonstraram interesse em participar do estudo, triados para ambulatório de adolescentes para serem aplicados os critérios de inclusão e os de não inclusão. Selecionados 38 desses e sendo eleitos 18 adolescentes obesos (Grupo Obeso), 11 do sexo masculino e 7 do sexo feminino e 20 adolescentes com IMC dentro dos parâmetros da normalidade (Grupo Eutrófico), 13 do sexo masculino e 7 do sexo feminino. Após serem avaliados clinicamente, seguiram encaminhados para realização de exames metabólicos de rotina para verificar se, de fato, apresentavam os critérios descritos abaixo.

Todos os participantes e seus respectivos responsáveis foram informados sobre o estudo, e a participação deles se deu apenas após leitura, discussão e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE, segundo a resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde) pelo responsável do menor e assinatura do termo de assentimento pelo menor que seguiu as normas da pesquisa clínica da UNINOVE. O projeto foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) sob o número 2.962.852 CAAE: 93900718.0.0000.5511.

Ambos os grupos foram submetidos à consulta hebiátrica com anamnese e exame físico em que foram obtidas medidas de peso, estatura, medidas de circunferência abdominal e cervical, mensurada pressão arterial e realização da bioimpedância elétrica. Durante a consulta, foram avaliados aspectos clínicos e estadiamento puberal do adolescente, segundo as tabelas de Tanner. Foi também realizado recordatório alimentar e avaliação de aspectos psicológicos do adolescente.

Critérios de inclusão

- Adolescentes de ambos os sexos, de 11 a 17 anos de idade, pós púberes pelos critérios de Tanner (meninas M4 ou menarca e meninos G4) e classificados de acordo com a curva de índice de massa corporal em Z-escore, da Organização Mundial da Saúde-2007, sendo o índice de obesos (score $Z > +2$ SD) e para os eutróficos com score $Z \leq +1$ SD.

Critérios de não inclusão

- Indivíduos apresentando: síndromes genéticas, alterações neuro endocrinológicas como hipotireoidismo não controlado e/ou diabetes tipo 1, imunodeficiências e doença degenerativa.
- Presença de distúrbios de comportamento alimentar (anorexia nervosa, bulimia nervosa, transtorno da alimentação sem outra especificação).
- Intenção de usar ou uso de tratamento dietético e/ou medicamentoso para obesidade ou dislipidemia.
- Uso de corticoide, antibiótico ou histórico de infecção há menos de 1 mês da inclusão na pesquisa.

4.2 Métodos

Avaliação de dados antropométricos

- Peso aferido em balança digital marca Welmy (Santa Bárbara d'Oeste – SP– Brasil) com precisão de 0,1 Kg. O adolescente foi pesado com o mínimo de roupas possível, sem calçados, com os braços ao longo do corpo, olhando à sua frente, com o mínimo de movimentos possível.
- Estatura mensurada por estadiômetro separado de parede, escala de 0,1 cm, posicionando-se o adolescente paralelo à parede de forma que ficasse ereto, sem calçados, braços pendentes ao lado do corpo, pés unidos. O cursor foi colocado na região apical do segmento cefálico, com a cabeça orientada no plano de Frankfurt paralelo ao solo, em momento de apneia inspiratória.
- Índice de massa corporal (IMC) calculado pelo valor do peso (Kg) dividido pela altura (metro) ao quadrado.
- Circunferência abdominal (CA): obtida com o uso de fita métrica inextensível, tendo como referência o ponto médio entre a última costela e a crista ilíaca. Foram realizadas duas a três medidas consecutivas, registrado o valor que mais se repetiu ou a média dos mais próximos. Para a classificação, foram utilizadas curvas de referência para circunferência abdominal (FERNÁNDEZ, 2004).
- Circunferência cervical (CC): Avaliada com fita métrica não extensível na altura da cartilagem cricoide ou o ponto médio do pescoço. Foram realizadas duas a três medidas consecutivas, registrado o valor que mais se repetiu ou a média dos mais próximos. A circunferência cervical ou de pescoço surge como um método recente em crianças, adolescentes e adultos para avaliação de obesidade e pode ser um preditor para fatores de risco como: dislipidemia, intolerância à glicose e apneia do sono. Para a classificação, foram utilizadas curvas de referência para circunferência cervical (COUTINHO, 2014).
- Bioimpedância (*Bioelectrical impedance analysis* - BIA): O adolescente foi orientado a comparecer para o exame em jejum de pelo menos 3 horas, ingerir água normalmente; não consumir café, chocolate, chás ou energéticos no dia do exame, alimentação leve, sem exercícios físicos por 24 horas antes da avaliação e estar de bexiga urinária vazia. Realizada por um aparelho específico, bipolar (RJL, modelo Quantum II, Clinton Twp,

Mi, EUA) aferido conforme as instruções do fabricante. Método utilizado para avaliar a composição corporal de adultos, crianças e adolescentes com a quantificação da massa de gordura (MG) e da massa livre de gordura (MLG). Os valores obtidos para diagnóstico da obesidade estimados pela BIA correlacionaram-se quase perfeitamente com os métodos de referência como a densitometria para ambos os sexos (CHULA DE CASTRO, 2017). A técnica consta de uma corrente elétrica alternante de baixa intensidade que é conduzida através do corpo e na medida da oposição da passagem desse fluxo de corrente (impedância). Calculada por meio de uma equação com base em dois vetores: a resistência e a reatância. A resistência é a restrição ou a voltagem perdida na passagem da corrente elétrica através do corpo e depende da quantidade de água presente. Quando a água corporal é grande, a corrente flui mais facilmente e apresenta menor resistência, ao passo que, em presença de maior quantidade de gordura corporal, a resistência será maior, pois o tecido adiposo possui baixa quantidade de água e é um mau condutor de energia. A reatância é outra força resistiva caracterizada pelo armazenamento da corrente durante a passagem pelas membranas e pelo meio intracelular.

- Pressão arterial (PA). A técnica aplicada para a mensuração foi a recomendada nos protocolos do Ministério da Saúde e da Sociedade Brasileira de Hipertensão, em que se utilizou aparelho aneróide e classificou-se a pressão arterial conforme as diretrizes da *American Heart Association* – 2008 e da V Diretriz Brasileira de Hipertensão – 2007 (URBINA, 2008; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007). Para mensuração da PA, era solicitado que o adolescente não estivesse com a bexiga urinária cheia e se certificando que também não tivesse fumado (caso fosse fumante), ingerido café ou bebida alcoólica 60 a 90 minutos anteriores à consulta. Foi solicitado ao paciente para descruzar as pernas no momento do exame e certificado que se apresentava relaxado. Para a medida da PA, utilizou-se manguito adequado (largura da bolsa de borracha de 40% da circunferência do braço e seu comprimento envolvendo ao menos 80%), com o paciente sentado, o braço foi mantido na altura do coração e apoiado na mesa em frente a ele, cotovelo levemente fletido e palma da mão voltada para cima. Inicialmente foi verificada a pressão sistólica pelo método palpatório do pulso radial, aguardado 1 minuto, insuflado o manguito novamente 20 a 30 mmHg acima da pressão sistólica obtida e mensurada a pressão arterial pelo método auscultatório. Caso a pressão

obtida se encontrasse nos níveis de pré-hipertensão ou hipertensão, mensurava-a por mais duas vezes para confirmação diagnóstica.

Exames metabólicos e suas referências de normalidade

Após inclusão no estudo, foram realizados os seguintes exames: TSH (0,34 a 6,0 μ UI/mL) e T4 livre (0,54 a 1,60 ng/dL), análise de perfil lipídico (Colesterol total (< 170 mg/dL), Lipoproteínas de alta densidade ou HDL- colesterol (> 45 mg/dL), Lipoproteínas de baixa densidade ou LDL- colesterol (< 100 mg/dL), Lipoproteínas de muito baixa densidade ou VLDL- colesterol (< 17 mg/dL) e Triglicérides (< 100 mg/dL) e perfil glicêmico (Glicemia de jejum (70 a 99 mg/dL), hemoglobina glicada ou HBA1c (< 5,7% = baixo risco de diabetes) e insulina de jejum (2 a 19 mU/L).

Biomarcadores de inflamação, imunidade e de permeabilidade intestinal:

Foram coletados 5ml de sangue venoso periférico em tubo sem anticoagulante para obtenção de soro para dosagem de citocina pró-inflamatória e marcadores de permeabilidade intestinal e 5 ml de sangue venoso periférico em tubo com anticoagulante (EDTA) para avaliação de linfócitos T e monócitos M1 E M2.

Quantificação de citocina sérica (IL-6) e de biomarcador de permeabilidade intestinal (Zonulina e LPS)

A IL-6 e a Zonulina foram quantificados por Ensaio Imunoenzimático (ELISA) de acordo com as instruções do fabricante (Quadro 4). A endotoxina de bactérias gram negativas denominada Lipopolissacarídeo – LPS, foi analisada pelo teste de LAL – *limulus ameobocyte lysate chromogenic endpoint assay* e quantificada por Espectrofotometria de acordo com as instruções do fabricante (Quadro 4).

Quadro 4 - Descrição dos ensaios de ELISA e Espectrofotometria em biomarcadores de inflamação e suas respectivas sensibilidades

ANALITO	FABRICANTE	CATÁLOGO	SENSIBILIDADE
Human IL-6 HS	R&D Systems – USA & Canada	HS600B	0,039 pg/mL
Human Zonulina	Cusabio	CSB-EQ027649HU	0.156 ng/mL
LPS, LAL	Hycult Biotech	HIT302	0,04 EU/ml

Quantificação dos Linfócitos T e Monócitos pela citometria de fluxo

O sangue dos voluntários foi coletado em tubo com EDTA, do sangue total foram transferidos 100µL para tubos de citometria de acordo com os grupos de anticorpos anti-linfócitos T CD4⁺, anti-linfócitos T reguladores (T reg=CD25⁺+FoxP3⁺), anti-CD14⁺ (monócitos M1) e anti-CD16⁺ (monócitos M2) conjugados cada um a fluorocromo diferente, de acordo com o protocolo do reagente BD FACS Brand Lysing Solution (Nº Catálogo 349202). As expressões desses marcadores em suas respectivas células foram apresentadas como média de intensidade de fluorescência (MIF).

O Quadro 5 apresenta os fluorocromos utilizados e seus respectivos fabricantes:

Quadro 5 - Descrição dos fluorocromos utilizados na quantificação dos linfócitos T e monócitos na citometria de fluxo

Anticorpo	Fluorocromo	Fabricante/Catálogo
CD4 ⁺	PE	eBiosciences
CD14 ⁺	APC	eBiosciences
CD16 ⁺	FITC	B&D
T reg (CD25 ⁺ + FoxP3 ⁺)	APC	B&D

Sequência experimental do estudo

Os adolescentes incluídos no grupo Eutrófico foram avaliados clinicamente e realizaram as coletas de sangue para análise de biomarcadores somente uma vez.

Os adolescentes do grupo Obeso, após coleta dos biomarcadores, receberam na primeira avaliação 60 envelopes de Simbioflora® em suas respectivas caixas de comercialização com data de validade e bula informativa. Eles foram orientados a diluírem o Simbioflora® sachê em líquido frio (água) e para serem ingeridos via oral, uma vez ao dia, logo após preparo, pela manhã ou almoço (para manter uma rotina e evitar o esquecimento de tomar a medicação) por 60 dias consecutivos (próximo à alimentação) e iniciando na manhã seguinte à admissão no estudo. Por contato telefônico, a cada 10 dias, foram colhidas informações de eventuais intercorrências e sobre o uso do medicamento e nenhum evento adverso foi referido (negado: dor abdominal, flatulência, alteração da consistência das fezes ou do número de evacuações).

No 60º dia, na reavaliação presencial, foram retornados os 60 envelopes vazios do simbiótico e realizados: exame clínico com as medidas antropométricas e de mensuração da pressão arterial, bioimpedância e coletado sangue para nova análise de biomarcadores. O fluxograma do estudo na primeira fase foi descrito na Figura 8 e a sequência do estudo na segunda fase está exemplificada na Figura 9:

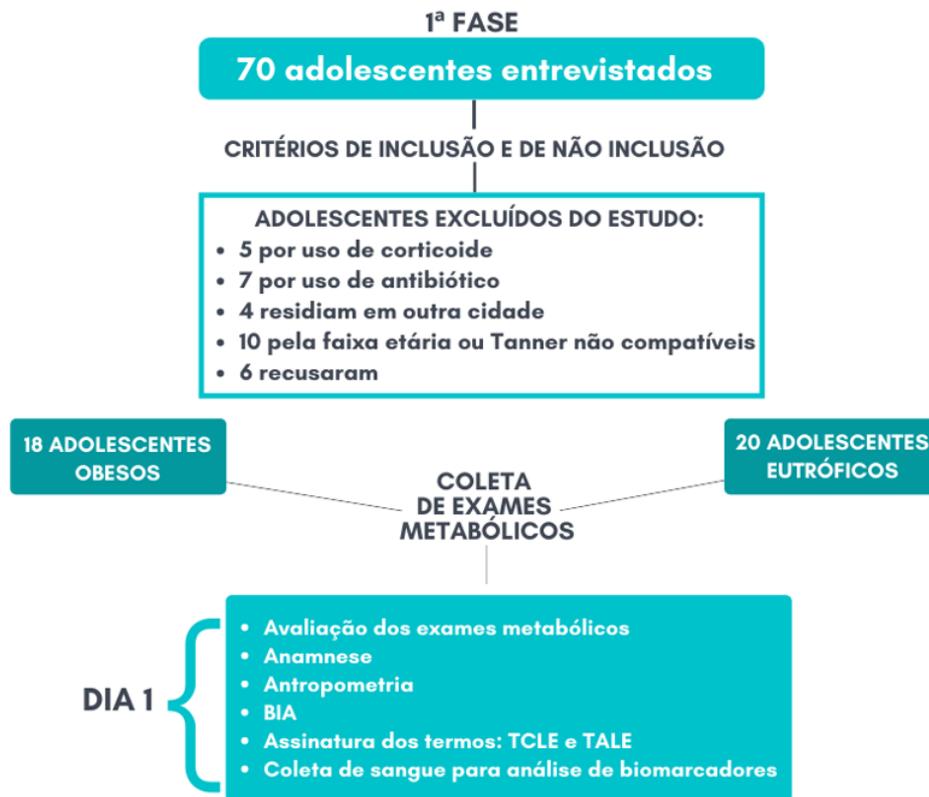


Figura 8 - Fluxograma do estudo 1ª fase



Figura 9 - Fluxograma do estudo 2ª fase

Simbiótico do estudo: O composto simbiótico utilizado no estudo é o Simbioflora®: apresentação em sachês de 6g, sem sabor, composto por uma formulação de fruto-oligossacarídeo 5,5g (prebiótico) e a composição dos seguintes probióticos: *Lactobacillus acidophilus* SD 5221NCFM 10^9 UFC, *Lactobacillus rhamnosus* SD 5675 HN001 10^9 UFC, *Lactobacillus paracasei* SD 5275 LPC-37 10^9 UFC e *Bifidobacterium lactis* SD 5674HN019 10^9 UFC (fabricado e comercializado por INVICTUS BRASIL- FMQ, endereço escritório comercial: Rua dos Autonomistas, 4.900 – OSASCO, São Paulo-SP).

4.3 Metodologia estatística

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para verificar a normalidade dos dados. As variáveis categóricas foram apresentadas por frequências absolutas e relativas e para as variáveis numéricas: média e mediana, quando apropriadas.

A comparação de variáveis entre 2 grupos independentes com distribuição paramétrica foi realizada utilizando-se o teste t de *Student*. Para análise de variáveis não paramétricas de 2 grupos independentes, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. A existência de associações entre duas variáveis categóricas foi verificada utilizando-se o teste de Qui-Quadrado.

Já para se comparar as médias para um mesmo grupo em dois momentos, utilizou-se o teste t de *Student* para amostras paramétricas ou teste de Wilcoxon para amostras não paramétricas.

Foi considerado nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

As correlações foram analisadas pelo método de Spearman onde o IMC, que diferencia os dois grupos, foi utilizado como variável dependente e como variáveis independentes foram avaliados: PAS, PAD, Linfócitos T-CD4, IL-6 e LPS.

As análises estatísticas foram realizadas com o uso do software estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS 25.0).

Determinação do tamanho de amostra

Para este estudo, foi considerado o Linfócitos T CD4+ como variável de dimensionamento. Desta forma, uma amostra de tamanho mínimo de 18 crianças é suficiente para detectar com um poder de 80% uma diferença de médias de 10 cel/mm^3 na CA (DP=15

cel/mm³) entre dois momentos de avaliação, a um nível de confiança de 95%, num teste t de *Student* para amostras pareadas. Estes dados foram obtidos via uma amostra piloto de 9 crianças (a média e desvio padrão foram aproximados com valores conservadores visando obter uma amostra maior) (MACHIN, 1997)

Para esses cálculos foi utilizado o *software Statistic STATA 12*. StataCorp. 2011. *Stata Statistical Software: Release 12*. College Station, TX: StataCorp LP.

5 RESULTADOS

Foram estudados 18 adolescentes obesos e 20 adolescentes eutróficos de ambos os sexos, com idade de 11 a 17 anos, com mesma maturidade sexual, para fins de demonstração do fenômeno da obesidade-inflamação-permeabilidade intestinal. Os 18 adolescentes do grupo Obeso compuseram o grupo único de intervenção.

As Tabelas 1 e 2 a seguir representam o valor médio e desvio padrão das características descritivas dos grupos. Tais características, entre os grupos, foram comparadas evidenciando aspectos patológicos relacionados à condição do aumento de peso.

A Tabela 1 representa o padrão de características antropométricas, dados da bioimpedância e medidas de pressão arterial. Além das alterações esperadas do aumento nas medidas de peso, circunferência cervical, circunferência abdominal e IMC, houve na Bioimpedância o aumento percentual da massa de gordura (MG) e a diminuição da massa livre de gordura (MLG) nos obesos que se contrapõem, como esperado, na presença de baixa MG e aumento da MLG nos eutróficos. O grupo de adolescentes Obesos, embora dentro do nível de normalidade, apresentou aumento da pressão arterial sistólica em relação ao grupo Eutrófico.

Tabela 1 - Dados antropométricos, de bioimpedância e de pressão arterial dos grupos Eutrófico e Obeso Pré-Intervenção

	Eutrófico (n=20)	Obeso Pré-Intervenção (n=18)	P
Sexo masculino	13 (65,0%)	11 (61,1%)	0,80 ^a
Idade (anos)	14 ± 1	14 ± 2	0,86
Peso (kg)	45,9 ± 6,9	83,4 ± 21,8	< 0,001
Estatura (m)	1,62 ± 0,09	1,63 ± 0,09	0,648
IMC calculado (kg/m ²)	17,5 ± 1,9	31,0 ± 6,0	< 0,001
CA (cm)	64,8 ± 4,3	95,9 ± 14,6	< 0,001
CC (cm)	31,6 ± 2,1	36,5 ± 3,8	< 0,001
Água Corporal Total (%-BIA)	64,4 ± 5,0	45,6 ± 4,5	< 0,001
MG (%-BIA)	13,8 ± 5,6	38,4 ± 5,1	< 0,001
MLG Total (%-BIA)	86,2 ± 5,6	61,6 ± 5,1	< 0,001
MMS Total (%-BIA)	21,8 ± 1,9	16 ± 1	< 0,001
IMC (kg/m ² BIA)	17,5 ± 1,9	30,6 ± 5,5	< 0,001
PAS (mmHg)	101 ± 9	109 ± 9	0,009
PAD (mmHg)	69 ± 7	72 ± 8	0,16

Significância = valores de $p < 0,05$ no teste t de *Student* não pareado ou de Qui-Quadrado^(a).

CA (Circunferência abdominal), CC (Circunferência cervical), MG (massa de gordura), MLG (massa livre de gordura), MMS (massa magra seca), BIA (Bioimpedância), IMC (Índice de massa corporal), PAS (Pressão Arterial Sistólica), PAD (Pressão Arterial Diastólica).

A Tabela 2 demonstra as características descritivas das variáveis metabólicas e de biomarcadores (de imunidade, inflamação e de permeabilidade) em que se observa que os adolescentes com elevada massa de gordura já apresentavam alterações bioquímicas sistêmicas, como os elevados índices de insulina, de triglicerídeos e das partículas do VLDL – colesterol comparados aos adolescentes eutróficos. Ambos os grupos com glicemia de jejum e função tireoidiana normais, entretanto, apesar de não haver diferença estatística em relação à hemoglobina glicada, o grupo Obeso apresentou níveis mais próximos ao limite superior da referência de normalidade.

A expressão de CD4⁺ e os níveis séricos de IL6 estavam significativamente mais elevados nos adolescentes obesos. Em relação aos biomarcadores de permeabilidade da membrana intestinal, observamos níveis séricos de LPS significativamente mais elevados nos adolescentes obesos e os níveis de Zonulina foram maiores nos adolescentes eutróficos (Tabela 2).

Tabela 2 - Características descritivas das variáveis metabólicas, imunidade celular, biomarcador inflamatório e biomarcadores associados à permeabilidade intestinal dos grupos Eutrófico e Obeso Pré-Intervenção

	Eutróficos (n=20)	Obesos Pré Intervenção (n=18)	<i>P</i>
	Média ± DP	Média ± DP	
Glicemia (mg/dl)	87 ± 8	86 ± 8	0,68
HBA1c (mg/dl)	5,3 ± 0,3	5,5 ± 0,3	0,14
Insulina (mU/L)	9,6 ± 3,7	18,9 ± 8,9	0,02
Triglicerídeos (mg/dl)	71 ± 23	104 ± 45	0,01
Colesterol Total (mg/dl)	149 ± 37	158 ± 30	0,40
LDL-c (mg/dl)	81 ± 30	90 ± 27	0,33
HDL-c (mg/dl)	51 ± 9	47 ± 6	0,18
VLDL-c (mg/dl)	15 ± 5	21 ± 9	0,02
TSH (ulU/ml)	2,27 ± 0,95	1,86 ± 0,93	0,22
T4 livre (ng/dl)	1,06 ± 0,18	1,07 ± 0,21	0,89
Linfócitos T-CD4 ⁺ (MIF)	8,9 ± 7,5	18,0 ± 12,4	0,01
Linfócitos T reg-FoxP3 ⁺ (MIF)	9,9 ± 6,6	9,9 ± 5,4	0,99
Monócitos M1- CD14 ⁺ (MIF)	69,5 ± 17,5	74,9 ± 15,3	0,32
Monócitos M2 - CD16 ⁺ (MIF)	24,4 ± 16,0	31,3 ± 22,7	0,28
IL6 (pg/ml)	0,26 ± 0,06	0,30 ± 0,06	0,02
Zonulina (ng/ml)	16,94 ± 8,58	9,90 ± 7,49	0,01
LPS (EU/ml)	0,08 ± 0,05	0,18 ± 0,15	0,01

Significância = valores de *p* < 0,05 no teste t de Student.

MIF= média de intensidade de fluorescência, EU= Endotoxin Units; IL6= interleucina-6, LPS: lipopolissacarídeo.

Com relação aos parâmetros antropométricos e de bioimpedância analisados antes e após a intervenção com simbiótico, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 3).

Tabela 3 - Dados das variáveis antropométricas, de bioimpedância e valores de pressão arterial no grupo Obeso Pré e Pós-Intervenção com simbiótico

	Pré-Intervenção	Pós-Intervenção	Variação Pós - Pré	P
IMC calculado (kg/m ²)	31,0 ± 6,0	30,3 ± 4,6	-0,7 ± 4,5	0,22
CA (cm)	95,9 ± 14,5	94,8 ± 14,3	-1,1 ± 3,5	0,18
CC (cm)	36,5 ± 3,8	36,5 ± 3,7	0,0 ± 0,7	0,92
Água Corporal Total (%-BIA)	45,6 ± 4,5	45,3 ± 4	-0,3 ± 1,8	0,54
MG (%-BIA)	38,4 ± 5,1	38,8 ± 4,7	0,3 ± 1,8	0,46
MLG Total (%-BIA)	61,6 ± 5,1	61,3 ± 4,7	-0,3 ± 1,8	0,46
MMS Total (%-BIA)	16,0 ± 1,0	16 ± 1,1	-0,1 ± 0,2	0,24
IMC (kg/m ² -BIA)	30,6 ± 5,5	30,9 ± 5,5	0,3 ± 0,7	0,10
PAS (mmHg)	109 ± 9	108 ± 9	0 ± 8	0,88
PAD (mmHg)	72 ± 8	74 ± 7	2 ± 9	0,38

Significância = valores de $p < 0,05$ no teste t de Student pareado ou de Wilcoxon.

CA (circunferência abdominal), CC (circunferência cervical), MG (massa de gordura), MLG (massa livre de gordura), MMS (massa magra seca), BIA (Bioimpedância), IMC (Índice de massa corporal), PAS (Pressão Arterial Sistólica), PAD (Pressão Arterial Diastólica).

Com relação aos biomarcadores inflamatórios, foram observados, no grupo obeso pós intervenção, um aumento significativo de Linfócitos T-CD4⁺ ($p=0,002$) e de Linfócitos T reg ($p=0,02$), enquanto os demais parâmetros não sofreram modificação (Tabela 4).

Tabela 4 - Dados das variáveis dos biomarcadores inflamatórios e de células imunes no grupo Obeso Pré e Pós-Intervenção com simbiótico

	Pré-Intervenção	Pós-Intervenção	Variação Pós - Pré	P
Linfócitos T-CD4 ⁺ (MIF)	18,0 ± 12,4	29,6 ± 10,6	11,6 ± 13,6	0,002
Linfócitos T reg-FoxP3 ⁺ (MIF)	9,9 ± 5,4	14,0 ± 6,7	4,1 ± 7,1	0,02
Monócitos M1- CD14 ⁺ (MIF)	74,9 ± 15,3	72,6 ± 15,1	-2,3 ± 18,5	0,60
Monócitos M2 - CD16 ⁺ (MIF)	31,3 ± 22,7	41,6 ± 23,6	10,3 ± 30,2	0,16
IL6 (pg/ml)	0,30 ± 0,06	0,32 ± 0,14	0,0 ± 0,1	0,55

Significância = valores de $p < 0,05$ no teste t pareado.

MIF= média de intensidade de fluorescência.

A Tabela 5 apresenta a análise das variáveis dos marcadores associados à permeabilidade intestinal após intervenção de 60 dias com simbiótico e pode-se observar que o LPS diminui sua concentração após suplementação, mas essa diferença não foi significativa e não houve variação na dosagem de Zonulina sérica pré e pós-intervenção.

Tabela 5 - Dados das variáveis de biomarcadores associados à permeabilidade intestinal Pré e Pós intervenção com simbiótico

	Pré-Intervenção	Pós-Intervenção	Variação Pós - Pré	P
Zonulina(ng/ml)	9,90 ± 7,49	11,05 ± 7,56	1,15 ± 3,36	0,39
LPS(EU/ml)	0,18 ± 0,15	0,15 ± 0,12	-0,03 ± 0,12	0,28

Significância = *p*- valor < 0,05 no teste t pareado. EU= Endotoxin Units, LPS: lipopolissacarídeo.

Considerando a variável que diferencia os grupos, IMC, foram analisados os parâmetros que apresentaram maior impacto ou se correlacionaram com essa variável.

A análise da correlação linear de Spearman, nos 18 adolescentes obesos, demonstrou ser positiva e significativa entre os seguintes dados conforme Tabela 6.

Tabela 6 - Análise de correlações positivas do IMC

Índice de massa corporal	Variável	r	P
IMC	PAS	0,64	<0,001
IMC	PAD	0,41	0,002
IMC	Linfócitos T-CD4 ⁺	0,39	0,003
IMC	IL-6	0,32	0,01
IMC	LPS	0,56	<0,001

As diferenças estatísticas foram calculadas analisando o coeficiente de correlação de Spearman. Significância: *p*-valor ≤ 0,05. IMC: Índice de massa corporal (Kg/m²), PAS (pressão arterial sistólica), PAD (Pressão arterial diastólica), IL-6 (Interleucina -6), LPS (Lipopolissacarídeo).

6 DISCUSSÃO

A obesidade tem sido uma condição muito relevante de estudos prévios e atuais devido aos seus índices crescentes e patologias associadas que atingem tanto adultos quanto crianças e adolescentes.

A obesidade *per se*, por meio do aumento da camada de gordura visceral, cria um ambiente inflamatório que tem sido associado com o mecanismo fisiopatológico de várias comorbidades, entre elas as alterações de permeabilidade intestinal, contribuindo para a translocação de bactérias ou ainda de produtos dessas como endotoxinas, aumentando ainda o ambiente inflamatório dessa condição. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar marcadores inflamatórios e de permeabilidade intestinal e intervenção com suplementação com simbióticos em adolescentes obesos.

Como esperado e já descrito na literatura, por meio da avaliação antropométrica, observamos maior IMC, circunferência cervical e abdominal nos obesos. Para avaliar de forma mais adequada os índices de massa magra e de gordura, foi utilizada a BIA em que observamos que a massa de gordura foi maior e que a massa magra livre de gordura e massa magra seca foram menores nos adolescentes obesos.

A maior circunferência abdominal, o excesso de massa de gordura e menor massa livre de gordura estão associados com maior risco para o desenvolvimento de aterosclerose, doenças metabólicas e diabetes mellitus na idade adulta (LLEWELLYN, 2015; PATNAIK, 2017).

Embora não tenhamos observado diferença entre os níveis séricos de glicemia e hemoglobina glicada, essa última, nos adolescentes obesos, se apresenta com níveis mais próximos ao limite superior de referência da normalidade; além de maior concentração dos níveis de insulina nesse grupo comparado aos eutróficos, corroborando para maior risco ao diabetes.

A literatura correlaciona o aumento da massa de gordura com o maior risco de outras alterações metabólicas como o aumento de triglicérides e RI (de OLIVEIRA, 2016). Entretanto, com exceção do aumento significativo de VLDL-c nos adolescentes obesos, não observamos alterações nas concentrações de colesterol total e frações.

O aumento de gordura visceral também influencia nos níveis pressóricos arteriais. Observamos que a pressão arterial sistólica no grupo de adolescentes obesos, embora dentro do nível de normalidade, apresentou aumento e correlação positiva com IMC em relação ao grupo

Eutrófico, o que pode contribuir para hipertensão precoce nesses adolescentes. De fato, uma revisão sistemática apresenta que 22% dos jovens acima de 12 anos que estão no sobrepeso ou obesos serão hipertensos na vida adulta (LLEWELLYN, 2015).

Como já descrito, a obesidade contribui para estado inflamatório. O aumento dos marcadores pró-inflamatórios na obesidade é fator de risco pelo desenvolvimento de alterações metabólicas, caso permaneçam nesse estado nutricional (WISSE, 2004). No presente estudo, observamos que os adolescentes obesos apresentaram maior concentração sérica de IL-6 e correlação positiva entre IMC e IL-6, sugerindo uma inflamação subclínica decorrente da hipertrofia de gordura visceral e da secreção de adipocinas como a IL-6 (TRAYHURN, 2013).

Esse estado de inflamação não depende apenas da liberação de adipocinas pró-inflamatórias, mas também de mecanismos de células imunes presentes no tecido adiposo (MAGRONE, 2015). Segundo Revelo (2014), há predominância de linfócitos T CD4⁺ Th1 que secretam IFN γ , favorecendo a polarização dos macrófagos para um fenótipo M1 e produzindo citocinas com ação pró-inflamatórias, como a IL-6 e no indivíduo eutrófico presença de linfócitos T reg, células CD4⁺Th2 e pela secreção de citocinas (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) que levam à polarização dos macrófagos no TAV para um fenótipo M2 com ação anti-inflamatória. Embora não tenhamos observado diferença quanto ao predomínio de monócitos M1 ou M2 em ambos os grupos estudados, observamos que os adolescentes obesos apresentaram maior expressão de linfócitos CD4⁺ e correlação entre IMC e CD4⁺, sugerindo que a obesidade pode ativar maior proliferação dessas células e amplificar o estado de inflamação. Visto que foram excluídos os indivíduos que tiveram episódio de infecção, os aumentos de linfócitos CD4⁺, e IL-6 parecem estar relacionados exclusivamente com a obesidade. Além disso, reforçando essa hipótese, foi observada correlação positiva do IMC com IL-6 e linfócitos CD4⁺.

Adicionalmente, o obeso apresenta um desequilíbrio na estrutura e/ou função de microbiota (disbiose) e essa altera a permeabilidade intestinal que contribui para a inflamação local e sistêmica (COX, 2015; WEST, 2015) com aumento também dos níveis de IL-6 (LEITE, 2017), reforçando que a disbiose contribui para micro-inflamação. Além disso, a disbiose contribui para alterações de permeabilidade da barreira epitelial intestinal, com depleção ou diminuição de proteínas de adesão das junções das células epiteliais (*tight junctions*) e consequente diminuição da resistência transepitelial. Dessa forma, com a quebra da barreira intestinal, pode ocorrer o aumento da resposta inflamatória devido à translocação dos microrganismos patogênicos ou da endotoxina presente na membrana externa dessas bactérias gram-negativas (lipopolissacarídeo-LPS) que é conhecida como importante ativador de

resposta imunológica (NUSRAT, 2000; CANI, 2007; ICHII, 2014). Corroborando com esses relatos, observamos que os adolescentes obesos apresentaram significativo aumento do LPS, marcador indireto de permeabilidade intestinal comparado aos adolescentes magros; sugerindo para a hipótese de translocação bacteriana.

A Zonulina, uma das proteínas de adesão que regula as *tight junctions* do enterócito (CAMARA-LEMARROY, 2019), tem sido considerada como um marcador diagnóstico de permeabilidade intestinal, sendo encontrada elevada no sangue de pacientes com sintomas de infecção ou inflamação intestinal (TARKO, 2017) e obesidade (ZAK-GOLAB, 2013). Entretanto, não observamos alterações dessa proteína no grupo dos obesos, mas aumentada no grupo eutrófico. É possível que a diferença entre a microbiota, que não foi avaliada em ambos os grupos, possa modular a expressão dessa proteína; entretanto essa afirmativa é meramente especulativa.

Tem sido descrito que os linfócitos T reg (FoxP3⁺) controlam a manutenção da integridade da mucosa intestinal contra a inflamação e em estudos com adultos e crianças obesos esses estão diminuídos (DONMA, 2015) e, como consequência, ocorre incremento de CD4⁺ (de OLIVEIRA, 2017). Entretanto, embora tenhamos observado aumento de CD4⁺ nos adolescentes obesos pré intervenção em relação aos eutróficos, não observamos diferenças dos linfócitos T reg entre os grupos.

Em decorrência da associação entre obesidade, inflamação e alteração da composição da microbiota intestinal (MORAES, 2014; WEST, 2015), realizamos uma estratégia de intervenção nos adolescentes obesos, sem restrição nutricional, com um composto simbiótico: Simbioflora® por 60 dias, para avaliar se esse suplemento poderia modular os biomarcadores de permeabilidade intestinal e de inflamação.

Em relação aos parâmetros antropométricos e BIA, não observamos impacto do simbiótico após os 60 dias de suplementação.

Embora o foco dessa intervenção tenha sido sobre os biomarcadores de permeabilidade intestinal e inflamação, não observamos, após uso do simbiótico, haver diminuição de IL-6 e LPS, que estavam aumentados nos adolescentes obesos comparados aos eutróficos. Entretanto, observamos que o simbiótico aumentou o número de linfócitos T reg (FoxP3⁺). Esses linfócitos são importantes na manutenção da integridade da mucosa intestinal contra a inflamação e tem sido descrito aumentar sua expressão com uso de simbióticos (GAREAU, 2010). O aumento de T reg (FoxP3⁺) está associado a maior síntese de IL-10 e TGF-β, o que pode contribuir para menor inflamação na mucosa e induzir reparo tecidual (KWON, 2010). No presente estudo,

apesar do aumento dos linfócitos T reg, não observamos correlação desse com diminuição do IL-6, LPS e CD4⁺. Ao contrário, após intervenção, houve aumento do CD4⁺; provavelmente devido à própria obesidade, já que não houve diminuição dessa nos adolescentes, perpetuando mecanismos associados à inflamação.

Essas correlações sugerem que a obesidade em adolescentes contribui para inflamação (IL-6), para maior risco para a elevação da pressão arterial sistêmica e, provavelmente, a obesidade tem impacto na permeabilidade intestinal, já que o aumento de LPS sugere essa associação. Destaca-se que foram excluídos do estudo todos os adolescentes que apresentavam algum tipo de infecção ou inflamação.

Limitações do estudo: 1) Provável que, com maior tempo de intervenção, poderíamos ter resultados mais robustos; 2) Não foi possível avaliar a composição da microbiota dos adolescentes, o que poderia contribuir para melhor compreensão dos biomarcadores e efeito do simbiótico; 3) Não incluímos um grupo placebo e conjuntamente a reavaliação laboratorial com exames metabólicos após intervenção para avaliar de forma mais eficiente a estratégia de intervenção.

Perspectivas futuras: 1) Estudo de seguimento para avaliar desfechos associados com a obesidade e efeito da intervenção com simbiótico. 2) Associar futuramente uma dieta mais restritiva.

Em resumo, este estudo observou que adolescentes obesos apresentam um grau de inflamação (IL-6), com ativação de linfócitos CD4⁺ e possível perda de permeabilidade intestinal com translocação epitelial de LPS. O uso da suplementação com simbiótico incrementou o número de linfócitos T reg (FoxP3⁺) que estão associados à modulação de alterações de permeabilidade intestinal e de inflamação. Assim, o uso de simbiótico pode ser benéfico sobre a inflamação como tratamento coadjuvante até que se alcance, com dieta nutricional, a normalidade de índice de massa corpórea em adolescentes obesos. Entretanto, novos estudos devem ser conduzidos para avaliar essa hipótese e desfechos associados à obesidade.

7 REFERÊNCIAS

ABESO: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/> em 05/04/2020, às 13h50.

AGOSTONI, C.; KIM, K. S. Nutrition and the microbiome 2015. *Pediatr. Res.*, v. 77, n. 1-2. p. 113-114, 2015.

AHMADI BADI, S., *et al.* Microbiota-derived extracellular vesicles as new systemic regulators. *Front Microbiol.*, v. 8, p. 1610, 2017.

AL-HAMAD, D.; RAMAN, V. Metabolic syndrome in children and adolescents. *Transl. Pediatr.*, v. 6, n. 4, p. 397-407, 2017.

ANBAZHAGAN, K., DUROUX-RICHARD, I., *et al.* Transcriptomic Network Support Distinct Roles of Classical and Non-Classical Monocytes in Human. *International Reviews of Immunology*, v. 33, n. 6, p. 470–489, 2014.

ATHIYYAH, A. F. Effects of a multispecies synbiotic on intestinal mucosa immune responses, *Iran J. Microbiol.*, v. 11, n. 4, p. 300-4, 2019.

ARUMUGAM, M., *et al.* Enterotypes of the human gut microbiome [published correction appears in *Nature*, v. 473, p.174-180, 2011.

AWAD, W. A.; HESS, C.; HESS, M. Enteric pathogens and their toxin-induced disruption of the intestinal barrier through alteration of tight junctions in chickens. *Toxins (Basel)*, v. 9, n. 2, p. 60, 2017.

BÄCKHED, F., *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v. 101, n. 44, p. 15717-23, 2004.

BAUMGART, D. C.; DIGNASS, A. U. Intestinal barrier function. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, v. 5, n. 6, p. 685-94, 2002.

BAUTISTA, L. E. *et al.* Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF- α) and essential hypertension. *J. Hum. Hypertens.*, v. 19, p. 149-43, 2005.

BIRO, F. M.; WIEN, M. Childhood obesity and adult morbidities. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 91, n. 5, p. 1499S-1505S, 2010.

BRAY, G. A. *et al.* The Science of obesity management: an endocrine society scientific statement. *Endocr. Rev.*, v. 39, n. 2, p. 79-132, 2018.

CAMARA-LEMARROY, C. R. *et al.* Biomarkers of intestinal barrier function in multiple sclerosis are associated with disease activity. *Mult. Scler.*, Jul 18, 2019.

CANI, P. D. *et al.* Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, v. 56, p. 1761-72, 2007.

- CARDILE, S. *et al.* Role of Prebiotics and probiotics diseases. *Minerva Pediatr.*, v. 68, n. 6, p. 487-97, 2016.
- CARICILLI, A. M. *et al.* Gut microbiota is a key modulator of insulin resistance in TLR 2 knockout mice. *PLoS Biol.*, v.9, n. 12, p. e1001212, 2011.
- CHULA DE CASTRO, J. A.; LIMA, T. R.; SILVA, D. A. S. Body composition estimation in children and adolescents by bioelectrical impedance analysis: A systematic review. *Journal of Bodywork & Movement Therapies*, v. 22, n. 1, p. 134-46, 2018.
- COMINATO, L., YBARRA, M. Obesidade: conceitos fisiopatológicos e abordagem terapêutica. In: *Endocrinologia na prática pediátrica*. Barueri: Ed Manole, p. 81-97, 2016.
- COUTINHO, C. A.; LONGUI, C. A.; MONTE, O.; CONDE, W.; KOCHI, C. Measurement of neck circumference and its correlation with body composition in a sample of students in Sao Paulo, Brazil. *Horm. Res. Paediatr.*, v. 82, n. 3, p. 179-86, 2014.
- COX, A. J.; WEST, N. P.; CRIPPS, A. W. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *Lancet Diabetes Endocrinol.*, v.3, n. 3, p. 207-15, 2015.
- CROS, J., CAGNARD, N, WOOLLARD, K., *et al.* Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity*. v. 33, n.3, p. 375–386, 2010.
- DAS, U. N. Vagus nerve stimulation as a strategy to prevent and manage metabolic syndrome. *Med. Hypotheses*, v. 76, n. 3, p. 429-33, 2011.
- DROR, T. *al et al.* Microbiota manipulation for weight change. *Microbial Pathogenesis*, v, 106; p. 146-161, 2017.
- de HEREDIA, F.P.; GÓMEZ-MARTÍNEZ, S.; MARCOS, A. Obesity, inflammation and the immune system. *Proc. Nutr. Soc.*, v. 71, n. 2, p. 332-338, 2012.
- de OLIVEIRA, P. M. *et al.* Association between fat mass index and fat-free mass index values and cardiovascular risk in adolescents. *Revista Paulista de Pediatria (English Edition)*, v. 34, n. 1, p. 30–37, 2016.
- de OLIVEIRA, G. L. V. *et al.* Intestinal dysbiosis and probiotic applications in autoimmune diseases. *Immunology*. v. 152, n. 1, p. 1-12, 2017.
- DESPRÉS, J. P.; LEMIEUX, I. Abdominal obesity, and metabolic syndrome. *Nature*, v. 444, n. 7121, p. 881-7, 2006.
- DONMA, M., *et al.* CD4⁺, CD25⁺, FoxP3⁺ T Regulatory cell levels in obese, asthmatic, asthmatic obese, and healthy children. *Inflammation*, v. 38, n. 4, p. 1473-78, 2015.
- ECKEL, R. H.; GRUNDY, S. M.; ZIMMET, P. Z. The metabolic syndrome. *The Lancet*, v. 365, n 9478, p. 1415-28, 2005.
- ENGIN, A. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on preadipocytes and macrophages: hypoxia hypothesis. *Adv. Exp. Med. Biol.*, n. 960, p. 305-326, 2017.

FAIN, J. N. *et al.* Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology*, v. 145, n. 5, p. 2273-82, 2004.

FASANO, A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol. Rev.*, v. 91, n. 1, p. 151-75, 2011.

FERNÁNDEZ, J. R. *et al.* Waist circumference percentiles in nationally representative samples of african-american, european-american, and mexican-american children and adolescents. *J Pediatr.*, v.145, n.4, p.439-44, 2004.

FERNANDEZ-REAL, J.M. *et al.* Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 86, p. 1154-9, 2001.

FESTA, A. *et al.* Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*, v. 102, n. 1, p. 42-7, 2000.

FESTI, D. *et al.* Gut microbiota and metabolic syndrome. *World J. Gastroenterol.*, v. 20, n. 43, p. 16079-94, 2014.

FICEK, J. *et al.* Relationship between plasma levels of zonulin, bacterial lipopolysaccharides, D-lactate and markers of inflammation in haemodialysis patients. *Int. Urol. Nephrol.*, v. 49, n. 4, p. 717-25, 2017.

FLEGAL, K. M. *et al.* Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, v. 309, n. 1, p. 71-82, 2013.

FLESCH, A.G.; POZIOMYCK, A.K.; DAMIN, D.C. The therapeutic use of symbiotics. *Arq Bras Cir Dig.* v.27, n.3, p. 206-209, 2014.

FORSBERG, A. *et al.* Pre- and probiotics for allergy prevention: time to revisit recommendations? *Clin. Exp. Allergy*, v. 46, n. 12, p. 1506-21, 2016.

FOX, C. S. *et al.* Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*, v. 116, n. 1, p. 39-48, 2007.

GALDEANO, C. M. *et al.* Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clinical and vaccine immunology: CVI*, v. 14, n. 5, p. 485-92, 2007.

GAREAU; M. G., SHERMAN; P. M., & WALKER; W. A. Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, v.7, n. 9, p.503-514, 2010.

GIANNINI, D. T. *et al.* C-reactive protein in Brazilian adolescents: distribution and association with metabolic syndrome in ERICA survey. *Eur. J Clin Nutr*, v. 71, n. 10, p. 1206–1211, 2017.

Global Atlas of Childhood Obesity. World Obesity Federation, 2019
<https://www.worldobesitydata.org>.

- GØBEL, R. J. *et al.* Obesity, inflammation and metabolic syndrome in Danish adolescents. *Acta Paediatr.*, v. 101, n. 2, p. 192-200, 2012.
- GÜNGÖR, N. K. Overweight and obesity in children and adolescents. *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.*, v. 6, n. 3, p. 129-43, 2014.
- HAN, J. C. *et al.* Childhood obesity. *Lancet*, v. 375, n. 9727, p. 1737-48, 2010.
- HEGAZY, S. K.; EL-BEDEWY. M. M. Effect of probiotics on pro inflammatory cytokines and NF- κ B activation in ulcerative colitis. *World J. Gastroenterol.*, v. 16, n. 33, p. 4145-51, 2010.
- HILL, C. *et al.* Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, v. 11, p. 506-14, 2014.
- HO, N. T. *et al.* Meta-analysis of effects of exclusive breastfeeding on infant gut microbiota across populations. *Nat. Commun.*, v. 9, n. 1, p. 4169, 2018.
- HUBERT, H. B. *et al.* Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*, n. 67, n. 5, p. 968-77, 1983.
- IACOBELLIS, G., *et al.* Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 88, n. 11, p. 5163-8, 2003.
- IACOBELLIS G, *et al.* Threshold values of high risk echocardiographic epicardial fat thickness. *Obesity*, v. 16, p. 887-92, 2008.
- IBGE. Ministério da Saúde. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro, 2010.
- ICHII, O. *et al.* Podocyte injury caused by indoxyl sulfate, a uremic toxin and aryl-hydrocarbon receptor ligand. *PLoS One*, v. 9, n. 9, p. e108448, 2014.
- KERSHAW, E. E.; FLIER, J. S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, v. 89, n. 60, p. 2548-56, 2004.
- KHAN, M. J. *et al.* Role of gut microbiota in the aetiology of obesity: proposed mechanisms and review of the literature. *J. Obes.*, v. 2016, p. 7353642, 2016.
- KOLEVA, P. T. *et al.* The infant gut microbiome: evidence for obesity risk and dietary intervention. *Nutrients*, v. 7, n. 4, p. 2237-60, 2015.
- KUME, T. *et al.* The relationship between serum zonulin level and clinical and laboratory parameters of childhood obesity. *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.*, v. 9, n. 1, p. 31-8, 2017.
- KWON, H. K. *et al.* Generation of regulatory dendritic cells and CD4⁺FoxP3⁺ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 107, n. 5, p. 2159-64, 2010.

- LAUBY-SECRETAN, B. *et al.* Body fat ness and cancer—viewpoint of the IARC Working Group. *New England Journal of Medicine*, v. 375, n. 8, p. 794-8, 2016.
- LEITE, A. Z., *et al.* Detection of increased plasma interleukin-6 levels and prevalence of *Prevotella copri* and *Bacteroides vulgatus* in the feces of type 2 diabetes patients. *Front Immunol.*, v. 8, p. 1107, 2017.
- LENFESTEY, M. W.; NEU J. Probiotics in newborns and children. *Pediatr. Clin. North Am.*, v. 64, n. 6, p. 1271-89, 2017.
- LIFSCHITZ, C. Early life factors influencing the risk of obesity. *Pediatr. Gastroenterol. Hepat. Nutr.*, v. 18, n. 4, p. 217-23, 2015.
- LLEWELLYN, A, *et al.* Childhood obesity as a predictor of morbidity in adulthood: a systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*, v. 17, n.1, p. 56-67, 2015.
- LEY, R.E. *et al.* Obesity alters gut microbial ecology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, n. 31, p. 11070-5, 2005.
- LEY, RE., *et al.* Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, v. 444, p. 1022-3, 2006.
- MACHIN, D.; CAMPBELL, M.; FAYERS, P.; PINOL, A. *Sample Size Tables for Clinical Studies*. 2nd Edition. Malden, MA: Blackwell Science, 1997.
- MAFRA, D., *et al.* Role of altered intestinal microbiota in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Future Microbiol.*, v. 9, n. 3, p. 399-410, 2014.
- MAGGE, S. N. *et al.*; COMMITTEE ON NUTRITION; SECTION ON ENDOCRINOLOGY; SECTION ON OBESITY. The metabolic syndrome in children and adolescents: shifting the focus to cardiometabolic risk factor clustering. *Pediatrics*, v. 140, n. 2, p. pii: e20171603, 2017.
- MAGRONE, T.; JIRILLO, E. Childhood obesity: immune response and nutritional approaches. *Front Immunol.*, v. 6, p. 76, 2015.
- MAYNARD, C. L., *et al.* Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*, v. 489, n. 7415, p. 231-241, 2012.
- MILLIKEN, S.; ALLEN, R. M.; LAMONT, R. F. The role of antimicrobial treatment during pregnancy on the neonatal gut microbiome and the development of atopy, asthma, allergy and obesity in childhood. *Expert Opin. Drug Saf.*, v.18, n. 3, p. 173-85, 2019.
- MOHAMMADI, H. *et al.* Effects of pro-/synbiotic supplementation on anthropometric and metabolic indices in overweight or obese children and adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Complementary Therapies in Medicine*, v. 44, p. 269-276, 2019.
- MORAES, A. C. *et al.* Intestinal microbiota and cardio metabolic risk: mechanisms and diet modulation. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.*, v. 58, n. 4, p. 317-27, 2014.
- MORAN, C. P.; SHANAHAN, F. Gut microbiota and obesity: role in aetiology and potential therapeutic target. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, v. 28, n. 4, p. 585-97, 2014.

MUST, A.; STRAUSS, R. S. Risks and consequences of childhood and adolescent obesity. *International Journal of Obesity*, v. 23, n. Suppl 2, p. S2-S11, 1999.

NCD Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*, v. 390, p. 2627-42, 2017.

NUSRAT, A. *et al.* Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions. IV. Regulation of tight junctions by extracellular stimuli: nutrients, cytokines, and immune cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, v. 1279, n. 5, p. G851-7, 2000.

PATNAIK, L. *et al.* Validating neck circumference and waist circumference as anthropometric measures of overweight/obesity in adolescents. *Indian Pediatr.*, v. 54, n. 5, p. 377-380, 2017.

PENDERS, J. *et al.* Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics*, v. 118, n. 2, p. 511-21, 2006.

PINEDA, E. *et al.* Forecasting future trends in obesity across Europe: the value of improving surveillance. *Obes. Facts.*, v. 11, p. 360-71, 2018.

PRADO, W.L. do; LOFRANO-PRADO, M.C.; OYAMA, L.M.; DÂMASO, A.R. Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. *Rev. Bras. de Med. do Esporte*, v. 15, n. 5, p. 378-383, 2009.

RAJ, M.; KUMAR, R. K. Obesity in children & adolescents. *Indian J. Med. Res.*, v. 132, n. 5, p. 598-607, 2010.

RAMAKRISHNA, C. *et al.* *Bacteroides fragilis* polysaccharide A induces IL-10 secreting B and T cells that prevent viral encephalitis. *Nat. Commun.* v.10, n.1, p 1-13, 2019.

REILLY, J. J.; KELLY, J. Long-term impact of overweight and obesity in childhood and adolescence on morbidity and premature mortality in adulthood: systematic review. *Int. J. Obes. (Lond.)*, v. 35, n. 7, p. 891-8, 2011.

REINEHR, T. Long-term effects of adolescent obesity: time to act. *Nat. Rev. Endocrinol.*, v. 14, n. 3, p. 183-8, 2018.

REVELO, X. S. *et al.* Morphological and inflammatory changes in visceral adipose tissue during obesity. *Endocr. Pathol.*, v. 25, n. 1, p. 93-101, 2014.

RIBEIRO-FILHO, F. F. *et al.* Gordura visceral e síndrome metabólica: mais que uma simples associação. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v. 50, n. 2, p. 230-8, 2006.

ROSITO, A. G. *et al.* Pericardial fat, visceral abdominal fat, cardiovascular disease risk factors, and vascular calcification in a community-based sample. The Framingham Heart Study. *Circulation*, v. 117, p. 605-13, 2008.

ROUND, J.L.; MAZMANIAN S.K. Inducible FoxP3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, v. 107, n. 27, p. 12204-9, 2010.

- SEKIROV, I. *et al.* Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.*, v. 90, n. 3, p. 859-904, 2010.
- SHAW, D. M. *et al.* T-cells and their cytokine production: The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of strenuous exercise. *Cytokine*, v. 104, p. 136-42, 2018.
- SILVA, M. J. *et al.* The multifaceted role of commensal microbiota in homeostasis and gastrointestinal diseases. *J. Immunol. Res.*, v. 2015, p. 321241, 2015.
- SINGER, K.; LUMENG C. N. The initiation of metabolic inflammation in childhood obesity. *J. Clin. Invest.*, v. 127, n. 1, p. 65-73, 2017.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA SBC, SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO SBH, SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. *Arq. Bras. Cardiol.* v. 89, n. 3, p. e24-79, 2007.
- SPELIOTES, E. K. *et al.* Fatty liver is associated with dyslipidemia and dysglycemia independent of visceral fat: the Framingham Heart Study. *Hepatology*, v. 51, n. 6, p. 1979-87, 2010.
- SPRANGERS, S.; VRIES, T. J. de; EVERTS, V. Monocyte Heterogeneity: Consequences for Monocyte-Derived Immune Cells. *Journal of Immunology Research*, v. 2016, p. 1-10, 2016.
- STEPHENS, R. W. *et al.* Gut microbiota: from microorganisms to metabolic organ influencing obesity. *Obesity (Silver Spring)*. v. 26, n. 5, p. 801-809, 2018.
- TARKO, A., *et al.* Zonulin: a potential marker of intestine injury in newborns. *Dis. Markers*, v. 2017, p. 1-6, 2017.
- TRAYHURN, P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. *Physiol. Rev.*, v. 93, p. 1-21, 2013.
- TREMAROLI, V., BÄCKHED, F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*, v. 489, p. 242-249, 2012.
- URBINA, E., *et al.*; AMERICAN HEART ASSOCIATION ATHEROSCLEROSIS, HYPERTENSION AND OBESITY IN YOUTH COMMITTEE. Ambulatory blood pressure monitoring in children and adolescents: recommendations for standard assessment: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in Youth Committee of the council on cardiovascular disease in the young and the council for high blood pressure research. *Hypertension*, v. 52, n. 3, p. 433-51, 2008.
- VAITKUS, J. A.; CELI, F. S. The role of adipose tissue in cancer-associated cachexia. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, v.242, n. 5, p. 473-81, 2017.
- VERDAM, F. J., *et al.* Human intestinal microbiota composition is associated with local and systemic inflammation in obesity. *Obesity (Silver Spring)*, v. 21, n. 12, p. E607-15, 2013.
- VIGITEL BRASIL, 2018: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. www.saude.gov.br/bvs, em 05/04/2020 às 14h09.

VOLP, A. C. P. *et al.* Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em prever a síndrome metabólica. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, v. 52, n. 3, p. 537-49, 2008.

WEISS, R. *et al.* Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N. Engl. J. Med.*, v. 350, n. 23, p. 2362-74, 2004.

WEST, C. E. *et al.* The gut microbiota and inflammatory non-communicable diseases: Associations and potentials for gut microbiota therapies. *J. Allergy Clin. Immunol.*, v. 135, n. 1, p. 3-13, 2015.

WESTERHOLM-ORMIO, M. *et al.* Infiltration of FoxP3⁺ and Toll-like receptor-4-positive cells in the intestines of children with food allergy. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, v. 50, n. 4, p. 36-76, 2010.

WHEELER, G. L. *et al.* Pericardial and visceral adipose tissues volumetrically with computed tomography are highly associated in type 2 diabetic families. *Invest. Radiol.*, v. 40, n. 2, p. 97-101, 2005.

WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. *Acta Paediatr.*, v. 450, n. Suppl., p. 76-85, 2006.

WISSE, B. E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J. Am. Soc. Nephrol.*, v. 15, p. 2792-800, 2004.

YANG J. *et al.* Monocyte and macrophage differentiation: circulation inflammatory monocyte as biomarker for inflammatory diseases. *Biomark Res.*, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2014.

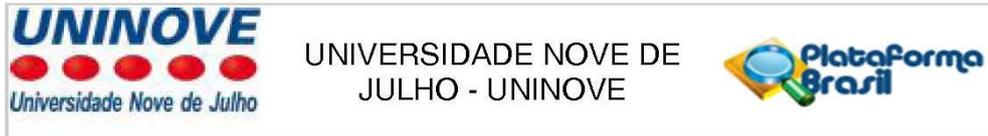
YOUSEFI, B. *et al.* Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *Journal of cellular physiology*, v. 234, n. 6, p. 8008-8018, 2019.

ZAK-GOLAB, A. *et al.* Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. *Int. J. Endocrinol.*, v. 2013, p. 1-9, 2013.

ZIMMET, P. *et al.* The metabolic syndrome in children and adolescents—an IDF consensus report. *Pediatr. Diabetes*, v. 8, p. 299-306, 2007.

8 ANEXOS

ANEXO 1: Parecer consubstanciado e aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho – UNINOVE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da permeabilidade intestinal e inflamação em adolescentes obesos

Pesquisador: Maria Aparecida Dalboni

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 93900718.0.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIACAO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.962.852

Apresentação do Projeto:

O parecer foi elaborado com base no documento:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1148568.pdf de 04/10/2018

A obesidade tem sido uma das preocupações mais relevantes entre crianças, adolescentes e adultos no século XXI. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a obesidade mundial quase triplicou desde 1975; 39% dos adultos com idade superior a 18 anos estavam acima do peso; a obesidade mata mais pessoas comparada as abaixo do peso e mais de 340 milhões crianças e adolescentes com idade de 5-19 anos eram obesos ou com sobrepeso em 2016. Assim, devido ao crescimento da prevalência da obesidade em crianças; frequentemente tem se observado consequências sérias como: a hipertensão arterial, dislipidemia, resistência à insulina, disglícemia, esteatose hepática e complicações psicossociais nesta população. Adicionalmente, vários estudos têm demonstrado associação entre adolescentes obesos e obesidade na vida adulta, com maior risco de morte precoce e maiores resultados adversos na saúde na vida futura. Ao longo das últimas décadas, vários estudos em animais e seres humanos têm identificado associações entre microbiota intestinal, metabolismo do hospedeiro e obesidade. Adicionalmente, estudos em crianças com sobrepeso comparada as magras demonstram diferenças na composição da microbiota intestinal. Segundo estudos em modelos animais e humanos a microbiota exerce um papel significante na patogênese da síndrome metabólica afetando o balanço metabólico do

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249

Bairro: LIBERDADE

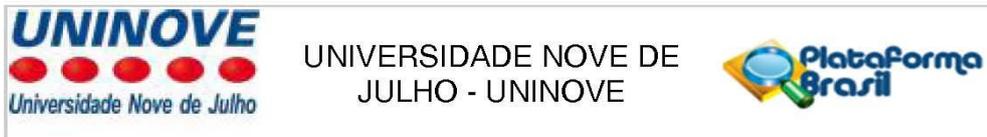
UF: SP

Município: SAO PAULO

CEP: 01.504-001

Telefone: (11)3385-9010

E-mail: comitedeetica@uninove.br



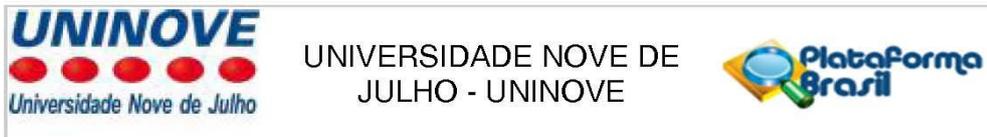
Continuação do Parecer: 2.962.852

hospedeiro através da modulação de absorção de energia, motilidade intestinal, apetite, metabolismo da glicose e dos lipídios e armazenamento de gordura hepática. O desequilíbrio da microbiota intestinal (disbiose) relatada em adultos tem sido fortemente associado com a ruptura da barreira epitelial intestinal, depleção ou diminuição das proteínas constituintes da junção das células epiteliais como: ocludina, claudina -1, zonulina-1 e diminuição da resistência transepitelial. Desta forma, pode ocorrer aumento de resposta inflamatória devido a translocação de microrganismos ou ainda por produtos tóxicos bacterianos, como LPS (lipopolissacarídeo, importante componente da membrana externa de bactérias gram-negativas e conhecido como importante ativador de resposta imunológica). Ainda, as células da imunidade como monócitos e linfócitos T presentes no intestino ou séricos, responsáveis pela defesa do organismo e a imunidade celular, podem estar desregulados na disbiose. Em resumo, a obesidade pode contribuir significativamente para a patogênese da disbiose intestinal por diferentes mecanismos, como alterações da barreira intestinal e mudanças na microbiota. Além disso, como o intestino e a microbiota estão ativamente envolvidos na regulação da imunidade local e sistêmica, qualquer alteração nesta associação simbiótica causada pela obesidade, podem ter impacto negativo sobre a resposta inflamatória contribuindo para lesão de células vasculares endoteliais, desequilíbrio da imunidade inata e adquirida e aumento de risco de doenças cardiovasculares, alergias e infecções. Desta forma, o objetivo primário deste estudo é avaliar o efeito da obesidade sobre marcadores séricos de permeabilidade intestinal e mecanismos inflamatórios em adolescentes obesos. Caso estes estejam alterados nestes adolescentes, iremos avaliar secundariamente o efeito da

suplementação com simbióticos sobre os mesmos mecanismos acima descritos, nesta população. Para o objetivo primário, serão selecionados 30 pacientes adolescentes, Tanner 4 (11 a 18 anos), obesos que são acompanhados nos Ambulatórios de Obesidade na Adolescência e/ou Nutrição da Universidade Nove de Julho e 30 pacientes não obesos como grupo controle na mesma faixa etária. A obesidade será avaliada pelo IMC e Bioimpedância. Serão coletados na fase inicial do estudo 5 ml de sangue com heparina. Destes, 5 ml serão utilizados para obtenção de plasma para dosagem de citocinas pró e anti-inflamatórias (ELISA) e marcadores de permeabilidade intestinal (ELISA) e 5 ml serão utilizados para avaliação de linfócitos T, B, Treg e monócitos M1 E M2 (citometria de fluxo). Palavras chaves: Obesidade, adolescentes, disbiose, permeabilidade intestinal, inflamação.

Hipótese:

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.852

A microbiota intestinal de adolescentes obesos possivelmente difere dos indivíduos não obesos e inflamatórios e de permeabilidade intestinal. Caso esta diferença exista faremos intervenção com analisamos marcadores inflamatórios séricos e de permeabilidade intestinal novamente para e após intervenção com simbióticos.

Metodologia Proposta:

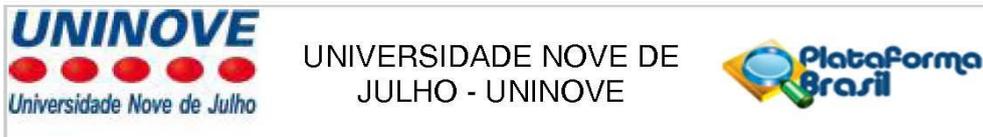
-Material.O presente estudo engloba a faixa etária de adolescentes Tanner 4 (11 – 17 anos). Adolescentes experimentam vários tipos de maturação, incluindo cognitivo (o desenvolvimento do pensamento operacional formal), psicossocial e físico. Esta complexa série de transições físicas é conhecida como puberdade. As mudanças mais visíveis durante a puberdade são crescimento na estatura eSerá coletado na fase inicial do estudo 10 ml de sangue coletados com tubo com heparina para: avaliação dos marcadores inflamatórios, de permeabilidade intestinal e de análise de linfócitos e monócitos/macrófagos. Destes 10 ml, 5 ml serão utilizados para obtenção de plasma para dosagem de citocinas pró e anti-inflamatórias e marcadores de permeabilidade intestinal e 5 ml serão utilizados para avaliação de linfócitos T, B, Treg e monócitos M1 E M2.Se constatada a diferença entre marcadores inflamatórios e/ou de permeabilidade intestinal e/ou de análise de linfócitos e monócitos/macrófagos no grupo de adolescentes obesos, estes serão convocados para receberem suplementação com 6g/dia/manhã (sachê já comercializado no Brasil) de simbióticos (Lactobacilos+bifidobactérias+frutooligosacarídes) por 60 dias. Após este período, serão analisados os mesmos parâmetros de permeabilidade intestinal, análise de linfócitos, monócitos/macrófagos, marcadores inflamatórios e bioimpedância.Avaliação da composição corporal • A obesidade será avaliada através das medidas de peso (aferido em balança digital com precisão de 0,1 Kg), estatura (mensurada por estadiômetro de parede), índice de massa corporal (IMC) calculado pelo valor do peso (Kg) dividido pela altura (metro) ao quadrado, circunferência abdominal (CA), circunferência cervical (CC) e pressão arterial (PA).Devido ao crescimento corporal na adolescência as normas de IMC vão variar de acordo com o sexo e idade:• Sobrepeso: z score > +1 SD (desvio padrão), equivalente ao IMC= 25 kg/m² aos 19 anos • Obesidade: z score >+2SD (desvio padrão), equivalente ao IMC de 30 kg/m² aos 19 anos.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar o efeito da obesidade em adolescentes de 11 anos a 17 anos,Tanner 4, sobre mecanismos

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249
Bairro: LIBERDADE **CEP:** 01.504-001
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010 **E-mail:** comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.952

permeabilidade intestinal em adolescentes obesos, de 11 anos à 17 anos, Tanner 4.

Objetivo Secundário:

- Avaliar o efeito da intervenção com simbiótico sobre mecanismos inflamatórios, permeabilidade macrófagos em adolescentes obesos Tanner 4.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O exame de sangue para os obesos e não obesos será feito no início, após assinatura do TCLE e do termo de assentimento e após 60 dias somente para os pacientes obesos. Coleta de sangue: serão coletados 10 ml de sangue, feita por uma agulha individual descartável, coletada de veia

localizada no braço e que será executada por enfermeiro (a) qualificado(a) ou médico (a). Este sangue coletado será mantido e identificado com seus dados em freezer para que se façam análises presente e futuras. Você será notificado dos resultados de exames no final do estudo (60 dias).

A coleta de sangue é considerada segura, mas é possível ocorrer riscos mínimos ou desconforto mínimo: a coleta de sangue pode ocasionar ardência no momento da punção com agulha e após coleta você será orientado a não dobrar o braço por 10 minutos para que se evite a formação de hematoma local (arroxeadado no local da punção), pode ocorrer um sangramento mais prolongado no local da punção e isto pode ocorrer devido a algum problema prévio de saúde o qual você deve notificar ao médico antes de iniciar o estudo. Não existem métodos alternativos para a coleta do sangue.

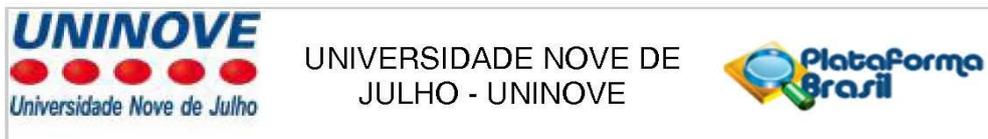
Simbiótico é composto por prebiótico e probióticos que contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Não contém Glúten. Não contém Lactose. Não contém açúcar. O risco de se tomar simbiótico é mínimo e refere-se a possível presença de gases. Caso você apresente esta queixa, a médica que o acompanha no projeto poderá prescrever um medicamento anti-gases (como por exemplo: Luftal).

Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de que se observarmos que a obesidade altera no sangue as proteínas da inflamação intestinal e a imunidade poderá ser possível que o uso do medicamento chamado simbiótico possa melhorar estas alterações evitando complicações futuras no organismo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisador atendeu as recomendações do comitê.

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010	E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.852

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Sem considerações

Recomendações:

Corrigir o endereço e o telefone do comitê de ética no TCLE (Endereço do Comitê de Ética da Uninove: Rua. Vergueiro nº 235/249 – 12º andar - Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001 Fone: 3385-9010 comitedeetica@uninove.br

Horários de atendimento do Comitê de Ética: segunda-feira a sexta-feira – Das 11h30 às 13h00 e Das 15h30 às 19h00).

Informar o local da Pesquisa no TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador deverá se apresentar na instituição de realização da pesquisa (que autorizou a realização do estudo) para início da coleta dos dados.

O participante da pesquisa (ou seu representante) e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

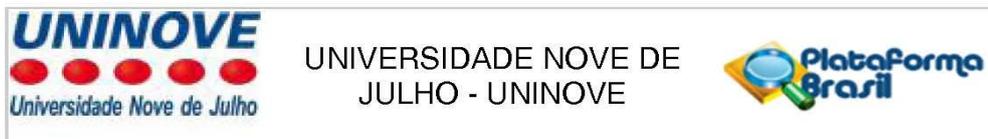
Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada.

Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 466/12 item X1. 2. f).

De acordo com a Res. CNS 466/12, X.3.b), o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS os relatórios semestrais. O relatório final deverá ser enviado através da Plataforma Brasil, ícone

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010	E-mail: comitedeetica@uninove.br



Continuação do Parecer: 2.962.852

Notificação. Uma cópia digital (CD/DVD) do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1148568.pdf	04/10/2018 13:05:11		Aceito
Outros	Carta_respostaTCLE_03_10_18.docx	04/10/2018 13:04:51	Maria Aparecida Dalboni	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODECONSENTIMENTOLIVREESCLARECIDOCORRIGIDO_031018.docx	04/10/2018 13:02:32	Maria Aparecida Dalboni	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMODEASSENTIMENTOPARACRIANCASEADOLESCENTES23_08.docx	23/08/2018 14:21:52	Maria Aparecida Dalboni	Aceito
Folha de Rosto	FolhaRostoPlataformaBrasil.pdf	18/06/2018 23:43:06	Maria Aparecida Dalboni	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	AvaliacaoDaAssociacaodaPermeabilidadeIntestinalEinflamacaoEmAdolescentesObesos.docx	17/06/2018 13:18:25	Maria Aparecida Dalboni	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 15 de Outubro de 2018

Assinado por:
CHRISTIANE PAVANI
(Coordenador(a))

Endereço: VERGUEIRO nº 235/249	CEP: 01.504-001
Bairro: LIBERDADE	
UF: SP	Município: SAO PAULO
Telefone: (11)3385-9010	E-mail: comitedeetica@uninove.br

ANEXO 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PARTICIPANTE DE PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: TIPO (.....) RG, CPF
SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO:..... Nº APTO:
BAIRRO:..... ESTADO:..... CIDADE:.....
CEP:..... TELEFONE:(.....).....
2. RESPONSÁVEL LEGAL:
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
DOCUMENTO DE IDENTIDADE:..... TIPO: (.....) RG, CPF
SEXO: M F
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO: Nº APTO:
BAIRRO:..... ESTADO:..... CIDADE:.....
CEP:..... TELEFONE:(.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL E INFLAMAÇÃO EM ADOLESCENTES OBESOS.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof. DRA MARIA APARECIDA DALBONI
CARGO/FUNÇÃO: Profa TITULAR DO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA DA UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

PESQUISADOR COLABORADOR: CYLMARA GARGALAK AZIZ SILVEIRA
MÉDICA COM TÍTULO DE ESPECIALISTA EM PEDIATRIA E TÍTULO DE ATUAÇÃO EM GASTROENTEROLOGIA PEDIÁTRICA. DOUTORANDA EM MEDICINA DA UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO.

INSCRIÇÃO NO CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA(CRM): 67.323
CARGO/FUNÇÃO: PESQUISADORA EXECUTANTE

UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO: UNIDADE VERGUEIRO

AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO: RISCO MAIOR

Rubrica do participante de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Prezado(a),

Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa e o presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP): Que é um grupo independente e interdisciplinar de professores que existem nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, responsáveis pela aprovação do seu conteúdo científico. Criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas em padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos- Res. CNS nº466/12). Portanto o Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos. Endereço do Comitê de Ética da Uninove: Rua Vergueiro nº235/249 – 2º subsolo - Bairro Liberdade, São Paulo-SP. Cep: 01504-000 **Fone:3385-9241**

1. **PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA:** A obesidade é uma preocupação na saúde mundial pois pode causar alterações na sua saúde e qualidade de vida atual e futura podendo causar doenças como a hipertensão arterial (pressão alta), diabetes mellitus (açúcar no sangue), problemas ortopédicos (dores nos quadris, joelhos...) e até problemas psicológicos como autoestima prejudicada. As doenças como hipertensão arterial, diabetes e infarto tem origem em alterações sanguíneas que já se detectam nos seus exames de sangue atuais, queremos saber o efeito da obesidade em possíveis mudanças nas células e proteínas da sua imunidade e suspeitamos que esses resultados de exames podem ser modificados e melhorados quando o paciente melhora sua flora intestinal através do uso de simbióticos. Além disso, também iremos estudar proteínas dosadas no sangue que fazem parte da parede intestinal e podem ser alteradas devido a obesidade.

Ao participar desta pesquisa sua identidade não é revelada e avaliaremos suas medidas corporais (peso, altura, calculamos seu índice de massa corporal , faremos uma avaliação chamada bioimpedância onde você irá subir sobre uma balança que tem um sensor que consegue medir a gordura, água e massa muscular de seu organismo sem nenhum procedimento invasivo somados a dados que mediremos como sua pressão arterial, medidas da circunferência da sua cintura e do seu pescoço) e iremos colher 10 ml de sangue (aproximadamente 1 colher de sopa) de sua veia de um dos braços e após resultado iremos anotar e estudar os seus exames de sangue analisando se há ou não diferença nos exames de imunidade e na dosagem das proteínas sanguíneas específicas (aquelas que dizem se seu intestino está inflamado ou não) entre adolescentes obesos e não obesos.

Nos adolescentes obesos após a coleta de sangue inicial já será fornecido um **medicamento simbiótico** (mistura de bactérias do bem e um açúcar saudável, que alimenta essas bactérias do bem e faz o equilíbrio da flora intestinal, pode ser ingerido tanto por quem tem intestino ressecado ou normal ou que apresente diarreia), já comercializado rotineiramente em rede de farmácias, que vem em sachês e não apresenta sabor e que deverá ser ingerido, 1 x dia, pela manhã, misturado em água, suco, leite frio ou alimento frio (fruta por exemplo). Este medicamento deve ser ingerido diariamente por 60 dias e no final destes 60 dias você deve retornar ao ambulatório para novas medidas de peso, estatura, pressão arterial, medidas das circunferências, cálculo de seu índice de massa corporal, bioimpedância e coleta de mais 10 ml de sangue (aproximadamente 1 colher de sopa).

Lembramos que a sua participação é voluntária, você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, em qualquer momento, mesmo após ter iniciado o(a) os(as) entrevista, avaliações ou exames sem nenhum prejuízo para você.

Rubrica do participante de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

2. **RISCOS E DESCONFORTOS:** O exame de sangue para os obesos e não obesos será feito no início, após assinatura do TCLE e do termo de assentimento e após 60 dias somente para os pacientes obesos. Coleta de sangue: serão coletados 10 ml de sangue (aproximadamente 1 colher de sopa), feita por uma agulha individual descartável, coletada de veia localizada no braço e que será executada por enfermeiro (a) qualificado(a) ou médico (a). Este sangue coletado será mantido e identificado com seus dados em freezer para que se façam análises presente e futuras. Você será notificado dos resultados de exames no final do estudo.

A coleta de sangue é considerada segura, mas é possível ocorrer riscos mínimos ou desconforto mínimo: a coleta de sangue pode ocasionar ardência no momento da punção com agulha e após coleta você será orientado a não dobrar o braço por 10 minutos para que se evite a formação de hematoma local (arroxeado no local da punção), pode ocorrer um sangramento mais prolongado no local da punção e isto pode ocorrer devido a algum problema prévio de saúde o qual você deve notificar ao médico antes de iniciar o estudo. Não existem métodos alternativos para a coleta do sangue. Após a coleta é possível que você sinta um mal-estar, podendo, ou não, ser acompanhado de tontura. Caso ocorra, o médico ou enfermeiro da equipe, prestará o atendimento e conduta necessários.

Simbiótico é composto por prebiótico e probióticos que contribui para o equilíbrio da flora intestinal. Não contém Glúten. Não contém Lactose. Não contém açúcar. O risco de se tomar simbiótico é mínimo e refere-se a possível presença de gases. Caso você apresente esta queixa, a médica que os acompanha no projeto poderá prescrever um medicamento anti-gases (como por exemplo: Lufal).

Caso aconteça algo que te preocupe, você pode nos procurar pelo telefone celular: (011) 99622-0660 da pesquisadora Dra Cylmara Gargalak Aziz Silveira ou no fone fixo do setor de pós-graduação da Universidade Nove de Julho (horário comercial) com a Profª Dra Maria Aparecida Dalboni :3385-9241

3. **BENEFÍCIOS:** Os benefícios esperados com o estudo são no sentido de que se observarmos que a obesidade altera no sangue as proteínas da inflamação intestinal e a imunidade poderá ser possível que o uso do medicamento chamado simbiótico possa melhorar estas alterações evitando complicações futuras no organismo.
4. **CONFIDENCIALIDADE:** Todas as informações que o(a) Sr.(a) nos fornecer ou que sejam conseguidas pelo histórico, exame clínico, exames de sangue e avaliações serão utilizadas para esta pesquisa. Suas respostas, dados pessoais, dados de exame clínico e laboratorial ficarão em segredo.
5. **ESCLARECIMENTOS:** Se tiver alguma dúvida a respeito da pesquisa e/ou dos métodos utilizados na mesma, pode procurar a qualquer momento o pesquisador responsável.

Comitê de Ética em Pesquisa Universidade Nove de Julho (CEP Uninove)

Endereço: Rua Vergueiroº235/249 – 12º Andar – Comitê de Ética

Bairro Liberdade, São Paulo-SP. Cep: 01504-000

Telefone para contato: 3385-9197

Horário de atendimento: Segunda à Sexta-feira – 11h30 às 19hs

Rubrica do participante de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

Nome do pesquisador responsável: Dra Maria Aparecida Dalboni

Endereço: Rua Vergueiro°235/249 – 2º subsolo – Setor de Pós-graduação em Medicina

Bairro Liberdade, São Paulo-SP. Cep: 01504-000

Telefone para contato: 3385-9241

Horário de atendimento: Segunda à Sexta-feira – 09hs às 17hs.

Nome do pesquisador colaborador: Dra Cylmara Gargalak Aziz Silveira

Celular para contato: (011) 99622-0660

6. **RESSARCIMENTO DAS DESPESAS:** Caso o(a) Sr.(a) aceite participar da pesquisa, NÃO receberá nenhuma compensação financeira.

7. **CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO:** Se o(a) Sr.(a) estiver de acordo em participar deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido que se segue, em **duas vias**, sendo que uma via ficará com você.

=====

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

São Paulo, _____ de _____ de _____.

Assinatura do participante e Representante legal

Assinatura do Pesquisador

ANEXO 3 - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE ASSENTIMENTO PARA CRIANÇAS E ADOLESCENTES (MAIORES DE 11

ANOS E MENORES DE 17 ANOS)

Você está sendo convidado para participar da pesquisa: **AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL E INFLAMAÇÃO EM ADOLESCENTES OBESOS**. Seus pais permitiram que você participe.

A obesidade é uma preocupação na saúde mundial pois pode causar problemas na sua saúde e qualidade de vida atual e futura, além de doenças como a hipertensão arterial (pressão alta) e do coração, diabetes mellitus (aumento de açúcar no sangue), problemas ortopédicos (dores nos quadris, joelhos...) e até problemas psicológicos como aceitação de sua imagem com os amigos prejudicada. Essas doenças podem levar a alterações no sangue e ser identificadas nos seus exames atuais. Assim, queremos saber como a obesidade interfere na sua saúde, por meio dos seus exames, e se com um medicamento que protege a flora intestinal, se haverá alterações nos seus exames e seu estado de saúde. Além disso, também iremos estudar proteínas dosadas no sangue que fazem parte da parede intestinal e podem ser alteradas devido a obesidade.

1. Os adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de 11 a 17 anos de idade.
2. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir.
3. Garantia de sigilo: Seus dados e informações serão protegidos e não serão revelados a outras pessoas com seu nome, garantindo sua privacidade e segurança. Você poderá ter acesso às suas informações a qualquer momento, bem como informações sobre procedimentos, riscos, benefícios relacionados à pesquisa e esclarecer eventuais dúvidas.
4. A pesquisa será feita no ambulatório de adolescentes obesos da Universidade Nove de Julho – Unidade Vergueiro (Rua Vergueiro, 235 – 2º Subsolo), onde nos adolescentes obesos serão feitas avaliações clínicas, indolores, que constam de 2 medições de: cintura abdominal, circunferência do pescoço, pressão arterial, bioimpedância (exame em aparelho, indolor, que avalia a gordura corporal) e 2 coletas de 10 ml de sangue, correspondente à 1 (uma) colher de sopa, (uma na entrada do estudo e outra após 60 dias de suplementação com medicamento simbiótico, que é um medicamento de sabor levemente açucarado e com bactérias do bem que melhoram a flora intestinal). O adolescente obeso receberá logo após a coleta de sangue e realização da bioimpedância o medicamento para ser tomado por 60 dias. Este medicamento que você irá receber é em pó (sachê), com leve sabor adocicado, pode ser dissolvido em água, leite frio, alimento frio ou suco, ou puro. Deverá ser tomado 1x/dia pela manhã. Para os adolescentes não obesos será feita somente na entrada do estudo 1 medição de: cintura abdominal, circunferência do pescoço, pressão arterial, bioimpedância (para ver a gordura corporal) e 1 coleta de 10 ml de sangue. Estes não receberão simbióticos e não serão convocados para retornarem.

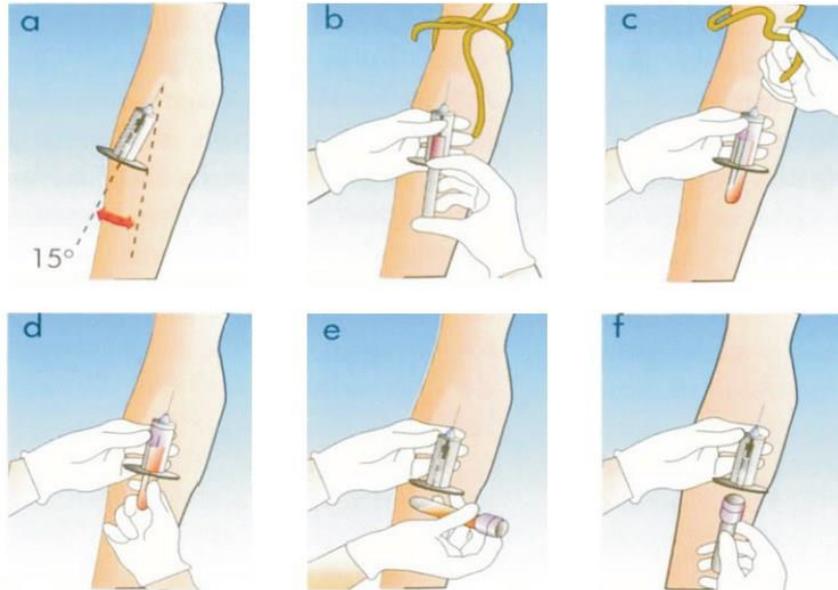
Os procedimentos serão os seguintes:

- a) Avaliação do histórico e exame físico (medidas de peso pela balança digital, altura medida pela régua de parede, pressão arterial medida por aparelho de pressão convencional (comum) e medidas da circunferência abdominal e do pescoço por fita métrica) na entrada do estudo e após 60 dias nos obesos e somente 1 vez nos adolescentes não obesos.
- b) Na bioimpedância o paciente irá subir sobre uma balança que tem um sensor que consegue medir a gordura, água e massa muscular sem nenhum procedimento invasivo.
- c) O exame de sangue para os obesos e não obesos será feito no início, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), assinado pelos seus pais ou responsável, e do termo de assentimento (este que você está lendo) e após 60 dias somente para os pacientes obesos. Coleta de sangue: serão coletados 10 ml de sangue (1 colher de sopa), feita por uma agulha individual descartável, coletada de veia localizada no braço e que será executada por enfermeiro (a) qualificado (a) ou médico (a). Este sangue coletado será mantido e identificado com seus dados em freezer para que se façam análises presente e futuras. Você será notificado dos resultados de exames no final do estudo (60 dias).

Explicando os exames:

A coleta de sangue é considerada segura, mas é possível ocorrer riscos mínimos ou desconforto mínimo: a coleta de sangue pode ocasionar ardência no momento da punção com agulha e após coleta você será orientado

a não dobrar o braço por 10 minutos para que se evite a formação de hematoma local (arroxeadado no local da punção), pode ocorrer um sangramento mais prolongado no local da punção e isto pode ocorrer devido a algum problema prévio de saúde o qual você deve notificar ao médico antes de iniciar o estudo. Após a coleta é possível que você sinta um mal-estar, podendo, ou não, ser acompanhado de tontura. Caso ocorra, o médico ou enfermeiro da equipe, prestará o atendimento e conduta necessários.



COLETA DE SANGUE PELA VEIA DO BRAÇO COM AGULHA E SERINGA
DESCARTÁVEIS E INDIVIDUAIS

Para a bioimpedância não há risco nenhum. O paciente irá subir sobre uma balança que tem um sensor que consegue medir a gordura, água e massa muscular sem nenhum procedimento invasivo.

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL
POR BIOIMPEDANCIOMETRIA



Caso aconteça algo que te preocupe, você pode nos procurar pelo telefone celular: (011) 99622-0660 da pesquisadora Dra Cylmara Gargalak Aziz Silveira ou no fone fixo do setor de pós-graduação da Universidade Nove de Julho (horário comercial) com a Profª Dra Maria Aparecida Dalboni: (011) 3385-9241.

Em caso de dúvidas, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (CEP Uninove) pelo telefone: (11) 3385-9197 ou e-mail: comitedeetica@uninove.br; horário de funcionamento: de segunda à sexta-feira, das 11h30 às 19hs, localizado na Rua Vergueiro, 235/249 – 12º andar.

Mas há coisas boas que podem acontecer pois se observarmos que a obesidade altera no sangue estas proteínas e a imunidade nos obesos poderá ser possível que o uso do medicamento chamado simbiótico possa melhorar estas alterações evitando complicações futuras no organismo.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar os adolescentes que participaram.

Quando terminarmos a pesquisa iremos, independente do resultado (melhora ou não melhora dos resultados dos exames com o medicamento) publicar os dados encontrados em revista científica procurando ajudar outros adolescentes no Brasil e ao redor do mundo.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima deste texto.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

SIM, aceito participar, ouvi tudo o que o responsável leu e explicou, e sei que quando não quiser mais participar é só falar não a qualquer momento. E recebi uma cópia deste papel.

NÃO, não quero participar.

São Paulo, ____ de _____ de _____.

ASSINATURA PARTICIPANTE: _____

ASSINATURA PESQUISADOR: _____

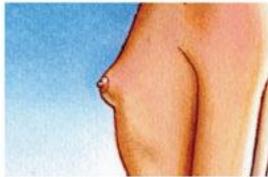
ANEXO 4 - Estadiamento puberal de meninas- Classificação de Tanner

Estágios de desenvolvimento das mamas



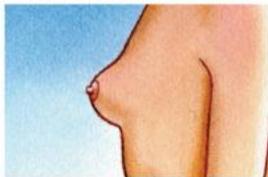
Estágio 1

Mamas infantis (M1)



Estágio 2

O broto mamário forma-se com uma pequena saliência com elevação da mama e da papila e ocorre o aumento do diâmetro areolar. Melhor visualizar lateralmente. (M2)



Estágio 3

Maior aumento da aréola e da papila sem separação do contorno da mama. (M3)



Estágio 4

Aumento continuado e projeção da aréola e da papila formando uma segunda saliência acima do nível da mama. (M4)



Estágio 5

Mama com aspecto adulto, com retração da aréola para o contorno da mama e projeção da papila. (M5)

Estágios de desenvolvimento dos pelos pubianos



Estágio 1

Ausência de pelos, ou pelagem natural. (P1)



Estágio 2

Pelos iniciam-se com uma pelagem fina, longa, um pouco mais escura, na linha central da região pubiana. (P2)



Estágio 3

Pelos em maior quantidade, mais escuros e mais espessos, e discretamente encaracolados, com distribuição em toda a região pubiana. (P3)



Estágio 4

Pelos do tipo adulto, encaracolados, mais distribuídos, e ainda em pouca quantidade. (P4)



Estágio 5

Pelos tipo adulto, com maior distribuição na região pubiana, e na raiz da coxa. (P5)

ANEXO 5 - Estadiamento puberal de meninos- Classificação de Tanner

Estágios de desenvolvimento da genitália



Estágio 1

Genitália pré-puberal ou infantil,



Estágio 2

Aparece um afinamento e hipervascularização da bolsa escrotal, e aumento do volume testicular sem aumento do tamanho do pênis. (G2)



Estágio 3

Ocorre aumento da bolsa escrotal e do volume testicular, com aumento do comprimento do pênis. (G3)



Estágio 4

Maior aumento e hiperpigmentação da bolsa escrotal, maior volume testicular com aumento do pênis em comprimento e diâmetro, e desenvolvimento da glândula. (G4)



Estágio 5

Genitália adulta em tamanho e forma e volume testicular. (G5)

Estágios de desenvolvimento dos pelos pubianos



Estágio 1

Pelugem pré-puberal ou infantil, nenhum pelo pubiano. (P1)



Estágio 2

Ocorre o início do crescimento de alguns pelos finos, longos, escuros e lisos na linha medial ou na base do pênis. (P2)



Estágio 3

Aparecimento de maior quantidade de pelos, mais escuros e mais espessos, e discretamente encaracolados, com distribuição em toda a região pubiana. (P3)



Estágio 4

Pelos escuros, espessos, encaracolados, do tipo adulto, mas ainda em menor quantidade na sua distribuição na região pubiana. (P4)



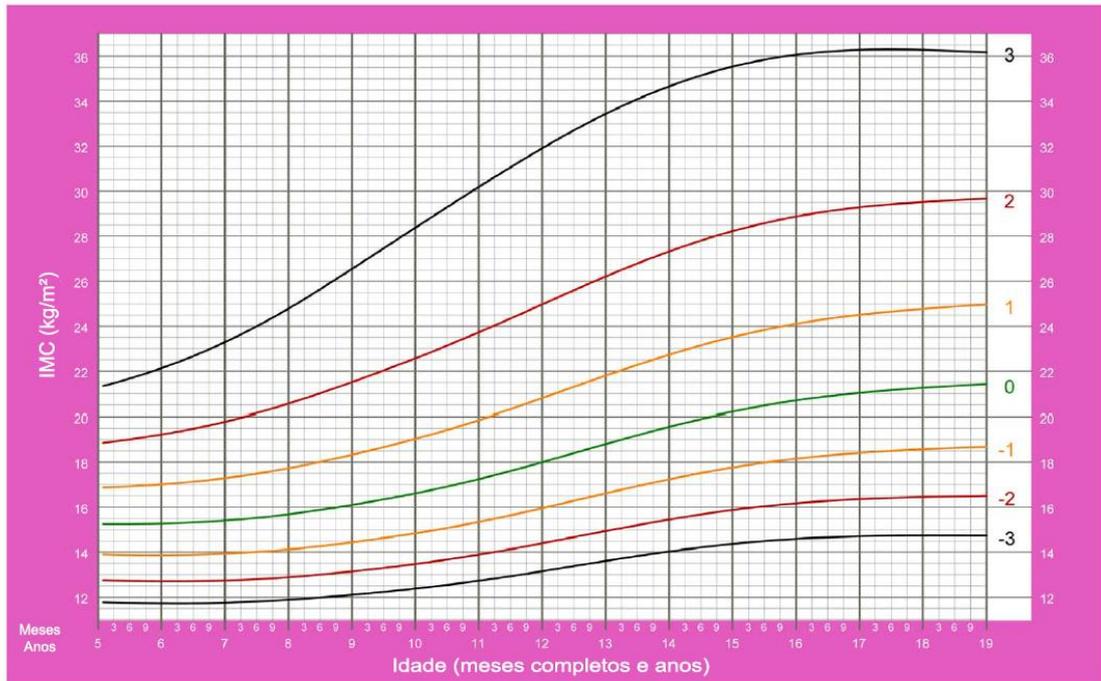
Estágio 5

Pelos do tipo adulto, em maior quantidade, cobrindo toda a região pubiana, e estendendo-se até a superfície interna das coxas. (P5)

ANEXO 6 - Curva de índice de massa corporal – meninas

IMC por idade MENINAS

Dos 5 aos 19 anos (escores-z)



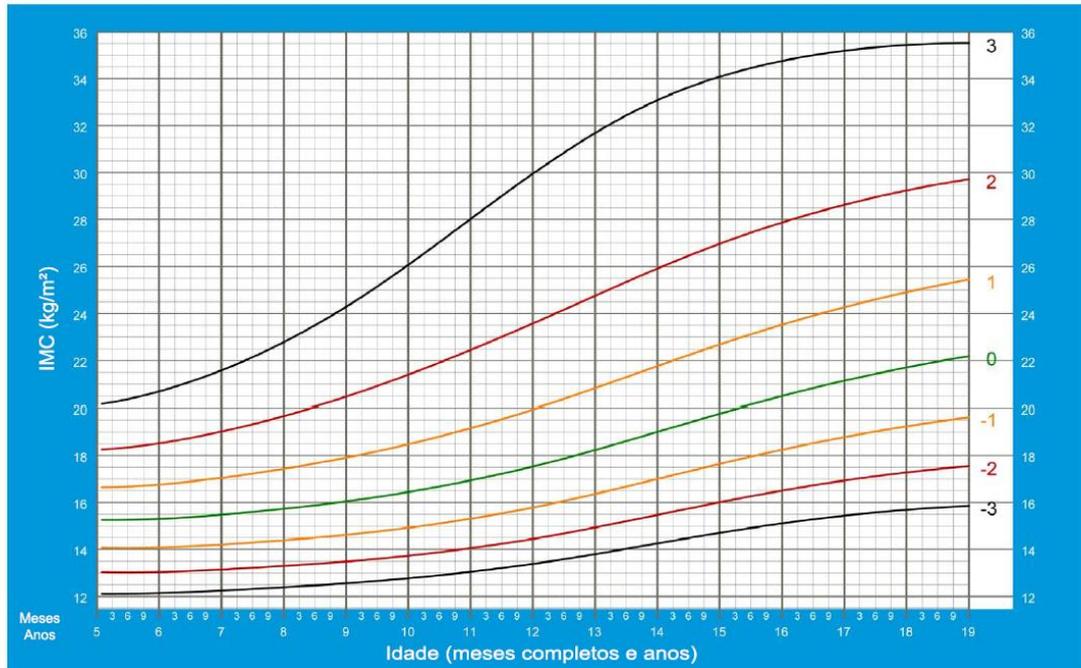
Fonte: WHO Growth reference data for 5-19 years, 2007 (<http://www.who.int/growthref/en/>)

ANEXO 7 - Curva de índice de massa corporal - meninos

IMC por idade MENINOS

Dos 5 aos 19 anos (escores-z)

Ministério
da Saúde

Fonte: WHO Growth reference data for 5-19 years, 2007 (<http://www.who.int/growthref/en/>)