



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM GENÉTICA

Sheila Adriana Pereira

**AVALIAÇÃO MOLECULAR POR ARMS-PCR DO SNP-1082 G/A DA IL-10 EM
ASSOCIAÇÃO COM OBESIDADE INFANTO JUVENIL**

Goiânia - Goiás
2016

Sheila Adriana Pereira

**AVALIAÇÃO MOLECULAR POR ARMS-PCR DO SNP-1082 G/A DA IL-10 EM
ASSOCIAÇÃO COM OBESIDADE INFANTO JUVENIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Genética da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, para obtenção do título de Mestre em Genética.

Área de concentração: Genética

Linha de pesquisa: Caracterização genética da diversidade biológica e tendências epidemiológicas

Orientador: Dr. Wilson de Melo Cruvinel

Co-orientador: Dr. Aparecido Divino da Cruz, PhD.

Goiânia - Goiás
2016

Catálogo da Publicação
Sistema de Biblioteca da PUC Goiás

P436a Pereira, Sheila Adriana
 Avaliação molecular por ARMS-PCR do SNP-1082 G/A da
 IL-10 em associação com obesidade infanto juvenil[
 manuscrito]/ Sheila Adriana Pereira.-- 2016.
 68 f.; il. 30 cm

Texto em português com resumo em inglês
Dissertação (mestrado) -- Pontifícia Universidade
Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto
Sensu em Genética, Goiânia, 2016
Inclui referências f.53-61

1. Obesidade. 2. Obesidade em crianças. 3. Distúrbios
do metabolismo. 4. Polimorfismo (Genética). 5. Interleucina-10.
6. Epidemiologia. I.Cruvinel, Wilson Melo. II.Pontifícia
Universidade Católica de Goiás. III. Título.

CDU: 613.25-053.2(043)

**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU
PROGRAMA DE MESTRADO EM GENÉTICA**

**ATA DA SESSÃO DE APRESENTAÇÃO E DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE
CONCLUSÃO DE CURSO DE MESTRADO**

- 1 No dia 28 de junho de 2016, reuniu-se a 122ª Banca Examinadora de Dissertação de Mestrado,
2 composta pelos membros: Prof. Dr. Wilson de Melo Cruvinel / PUC Goiás (presidente), Prof Dr. Sérgio
3 Henrique Nascente Costa (Presidente), Profª. Dra. Keila Correia de Alcântara/UFG, para avaliação da
4 dissertação intitulada “**Avaliação molecular por ARMS-PCR do SNP-1082 G/A da IL-10 em**
5 **associação com obesidade infanto-juvenil**”, da candidata **Sheila Adriana Pereira**, aluna do Mestrado
6 em Genética (MGene) da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. A sessão iniciou-se
7 às 20.h.00.min., sob a presidência do Prof. Dr. Wilson de Melo Cruvinel, que concedeu 30 minutos ao
8 candidato para expor sinteticamente o estudo. A seguir, a arguição procedeu-se de forma interativa. Ao
9 final da defesa, a sessão foi suspensa e a Comissão se reuniu em separado para avaliação e atribuição de
10 nota. Discutido o trabalho e o desempenho do mestrando, a Banca Examinadora considerou-a
11 apta com a nota 8,5 (oito vírgula cinco) equivalente ao
12 conceito “B”. Portanto, a discente foi declarada **Mestre em Genética pela Pontifícia Universidade**
13 **Católica de Goiás**, pelo Presidente da Banca Examinadora, que encerrou a sessão às 22.h.00.min.
14 Não havendo nada mais a tratar, a presente ata foi lavrada e assinada pelos membros da Banca
15 Examinadora.
16 Prof. Dr. Wilson de Melo Cruvinel / PUC Goiás (Presidente) _____
17 Prof Dr. Sérgio Henrique Nascente Costa (PUC Goiás) _____
18 Profª. Dra. Keila Correia de Alcântara/UFG _____
19 Esta ata contém 19 linhas contínuas, sem rasuras, emendas ou retificação.



**PUC
GOIÁS**

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010
Goiânia • Goiás • Brasil
Fone: (62) 3946.1070 • Fax: (62) 3946.1070
www.pucgoias.edu.br • prope@pucgoias.edu.br

ATA COMPLEMENTAR Nº 122/2016


MESTRADO EM GENÉTICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

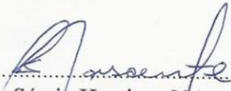
DISCENTE: SHEILA ADRIANA PEREIRA

DEFENDIDA EM 28 DE JUNHO DE 2016 E APROVADA COM CONCEITO B.....

O título foi alterado (X) não () sim _____

BANCA EXAMINADORA


.....
Prof. Dr. Wilson de Melo Cruvinel
PUC Goiás (presidente-orientador)


.....
Prof. Dr. Sérgio Henrique Nascente Costa
PUC Goiás- (Membro interno)


.....
Profa. Dra. Keila Correia de Alcântara
UFG- (Membro externo)

“Desistir...eu já pensei seriamente nisso, mas nunca levei realmente a sério; é que tem mais chão nos meus olhos do que cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus passos do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça. ”

Cora Coralina

Dedico este estudo...

*Aos meus pais **João Joaquim Pereira** e **Ení da Silva Pereira***

Meus maiores incentivadores e exemplos de vida, ética, fé, amor, dedicação e superação, meus maiores sustentáculos para conseguir cumprir com determinação os desafios impostos pela vida

*À minha irmã **Ana Carolina***

Sempre torna minha vida mais leve e meus dias muito mais alegres

*Aos meus irmãos **Luiz Felipe** e **Marcelo Augusto***

Pelo companheirismo, alegria e amor

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

*“A gratidão é o único tesouro dos humildes.”
William Shakespeare*

A Deus, minha maior força, por ter me dado condições de lutar e alcançar os objetivos pretendidos.

*Ao meu orientador **Wilson de Melo Cruvinel**, pela dedicação e paciência em me acompanhar e me instruir neste trabalho, compartilhando seus conhecimentos.*

*Ao meu co-orientador **Aparecido Divino da Cruz**, uma pessoa muito especial a quem admiro muito, meus sinceros agradecimentos por sua contribuição para que fosse possível a concretização deste trabalho.*

*À **Dra. Renata Machado Pinto**, exemplo de profissional e pesquisadora por ceder as amostras de seus pacientes para que fosse possível a realização deste trabalho, muito obrigada!*

Aos pacientes e seus familiares que voluntariamente concordaram em participar desse estudo, contribuindo para os avanços no estudo acerca da obesidade.

*A todos os **professores do Mestrado em Genética** da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, pelo enriquecimento de conhecimentos prestados com grande dedicação, paciência e incentivo. Admiro muito todos vocês!*

*À professora **Lysa Bernardes Minasi** pela atenção em acompanhar todos os detalhes práticos deste projeto e seu direcionamento.*

*Aos **profissionais do Núcleo de Pesquisas Replicon**, que me apoiaram neste estudo e dedicaram grande parte de seu tempo em me auxiliar nesta pesquisa, especialmente à **Lilian de Souza Teodoro**, que contribuiu diretamente no processamento das amostras. Muito obrigada pelo apoio de vocês!*

*À **Mackç Wendhell Gonçalves** pela valiosa contribuição nas análises estatísticas.*

*À **Alessandra Malta**, secretária do MGene, uma pessoa muito especial e dedicada, muito obrigada pela sua amizade e carinho!*

*Aos meus queridos **colegas de mestrado**, juntos passamos por momentos difíceis, mas também tivemos momentos muito especiais que ajudaram a tornar esta jornada mais leve e divertida! Agradeço muito a amizade de todos!*

*Aos **membros da banca avaliadora** pela contribuição e por aceitarem participar na avaliação deste trabalho.*

*Agradeço especialmente à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás, Fapeg**, pela concessão da bolsa de Mestrado para realização desta pesquisa.*

“Concedei-me Senhor a serenidade necessária para aceitar as coisas que não posso modificar, coragem para modificar aquelas que posso e sabedoria para distinguir uma da outra. ”

ÍNDICE ANALÍTICO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	x
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE QUADROS	xiv
INTRODUÇÃO	14
1.REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1 Epidemiologia	14
1.2 Obesidade	20
1.3 Fisiopatologia e aspectos imunológicos na Obesidade	23
1.4 Fatores genéticos	29
2.OBJETIVOS DO ESTUDO	33
2.1 Objetivo geral	33
2.2 Objetivos específicos	33
3.MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.1 Delineamento do estudo	34
3.2 Grupo amostral	34
3.3 Amostras Biológicas, Isolamento e Quantificação do DNA	35
3.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	36
3.5 Análise e Documentação dos Produtos de PCR	37
3.6 Determinação das taxas plasmáticas de Colesterol total, HDL, LDL e triglicérides	38
3.7 Análise estatística	39
RESULTADOS	40
DISCUSSÃO	48
CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
APÊNDICES	
Apêndice A	64
Apêndice B	66

RESUMO

A obesidade corresponde a um problema mundial de saúde pública, sendo uma desordem influenciada por fatores genéticos e ambientais. Consiste em uma importante causa de morbidade e mortalidade no mundo todo e, pelas características da doença, tem sido entendida como uma desordem crônica de natureza inflamatória. Diversos estudos de polimorfismos associados com a síndrome metabólica, tem sido realizados em crianças e adolescentes obesos, demonstrando significativa relação com essa doença. As diversas citocinas inflamatórias exercem influência significativa no desenvolvimento e na manutenção da obesidade por seu papel na regulação da homeostase energética e no metabolismo. O presente estudo teve como finalidade associar o polimorfismo da citocina anti-inflamatória IL-10 e a possível relação desta com a obesidade. Foi avaliado a associação do polimorfismo do SNP 1082G/A no promotor do gene da interleucina-10 com a obesidade infanto juvenil em 48 casos e 45 controles, associando com o perfil lipídico. Nesse estudo tipo caso-controle foi utilizada a metodologia de ARMS-PCR para a determinação alélica. Dos indivíduos com obesidade, 27 (56%) apresentaram o genótipo A/G, seguidos de 13 (27%) com o genótipo A/A e 8 (17%) com o genótipo G/G. Dos controles analisados, 28 (62%) apresentaram genótipo A/G, seguidos de 9 (20%) com genótipo A/A e 8 (18%) com o genótipo G/G. Nas análises foi verificado que a presença do polimorfismo SNP-1082G/A foi semelhante nos dois grupos, apresentando maior prevalência de heterozigotos para o loco da IL-10. Conclui-se com o presente estudo que as frequências alélicas e genotípicas foram semelhantes nos dois grupos analisados não sendo possível sugerir tal alteração como fator de risco para obesidade. Foi evidenciada uma significativa diferença dos níveis séricos de colesterol HDL, reforçando-se a importância da avaliação desse parâmetro que se mostrou em níveis inferiores nos indivíduos obesos.

Palavras-chave: obesidade infantil, polimorfismo -1082G/A, interleucina 10, hipercolesterolemia

ABSTRACT

Obesity represents a global public health problem, being a disorder influenced by genetic and environmental factors. It is an important cause of morbidity and mortality worldwide and the disease characteristics, has been understood as a chronic disorder of inflammatory nature. Several studies of polymorphisms associated with the metabolic syndrome, has been performed in obese children and adolescents, demonstrating significant relationship with this pathology. The several inflammatory cytokines exert significant influence in the development and maintenance of obesity for her role in the regulation of energy homeostasis and metabolism. The aim of this study was to evaluate the association of the polymorphism of SNP 1082G / A in the interleukin-10 gene promoter with the Children and Youth obesity in 48 cases and 45 controls, associated with the lipid profile. In this study case-control was used to ARMS-PCR methodology for allelic determination. Of obese individuals, 27 (56%) had the genotype A / G, followed by 13 (27%) with genotype A / A and 8 (17%) with genotype G / G. Of the analyzed controls, 28 (62%) had Genotype A / G, followed by 9 (20%) with genotype A / A and 8 (18%) with genotype G / G. In the analysis it was found that the presence of the SNP-1082G / A polymorphism was similar in both groups, no representing risk factor to obesity. Also there was a significant difference in HDL cholesterol levels in both groups, linking obesity to low levels of HDL in adolescents and reinforcing the relevance of this parameter.

Keywords: obesity childhood, polymorphism -1082G/A, interleukin 10, hypercholesterolaemia

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A	Adenina
ABESO	Associação Brasileira para Estudos da Obesidade
ARMS-PCR	<i>Amplification Refractory Mutation System</i> (sistema de amplificação de mutação refratária)
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CAMs	Moléculas de adesão celular
CT	Colesterol Total
DCNT	Doença Crônica Não Transmissível
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DN	<i>diabetic nephropathy</i> (nefropatia diabética)
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ENDEF	Estudo Nacional da Despesa Familiar
G	Guanina
GM-CFS	<i>Granulocyte macrophage colony-stimulating factor</i> (fator estimulante de colônias de macrófagos de granulócitos)
GnRH	<i>Gonadotropin Releasing Hormone</i> (Hormônio liberador de gonadotropina)
HDL	<i>High density lipoprotein</i> (lipoproteína de alta densidade)
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL-1 α	Interleucina 1-alfa
IL-1 β	Interleucina 1-beta
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-5	Interleucina 5
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
IL-16	Interleucina 16
IMC	Índice de massa corporal
INF- γ	Interferon Gama

LDL	<i>Low density lipoprotein</i> (lipoproteína de baixa densidade)
MS	Ministério da Saúde
NPR	Núcleo de Pesquisas Replicon
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (reação em cadeia da polimerase)
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios
PNSN	Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição
POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
SM	Síndrome Metabólica
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (polimorfismo de nucleotídeo único)
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	Triglicérides
Th-1	Linfócitos T helper 1
Th-2	Linfócitos T helper 2
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Classificação de IMC para adultos segundo a Organização Mundial de Saúde	22
Tabela 2 -	Distribuição percentual dos casos e controles, de acordo com o sexo, em relação aos genótipos analisados do SNP -1082 da interleucina-10	40
Tabela 3 -	Caracterização dos dados sociodemográficos e do lipidograma dos grupos controle e obesos	41
Tabela 4 -	Estatísticas descritivas do colesterol total, HDL, LDL e triglicérides	42
Tabela 5 -	Resultado do teste do χ^2 testando o equilíbrio de Hardy-Weinberg	44
Tabela 6 -	Resultado da comparação das frequências genóticas entre os grupos de obesos com o controle	44
Tabela 7 -	Resultado da comparação das frequências alélicas entre os grupos de obesos com o controle	45
Tabela 8 -	Resultado do teste do Qui-quadrado entre os genótipos e os exames de perfil lipídico do grupo	45
Tabela 9 -	Resultado do teste do Qui-quadrado comparando as frequências alélicas com os exames de perfil lipídico do grupo	47

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Evolução de indicadores antropométricos na população de 5 a 9 anos de idade por sexo - Brasil - Períodos 1974-1975, 1989 e 2008-2009	16
Figura 2	Curva de IMC para meninas de 5 a 19 anos	22
Figura 3	Curva de IMC para meninos de 5 a 19 anos	23
Figura 4	Funções biológicas exercidas pelo tecido adiposo.	24
Figura 5	Hipertrofia do tecido adiposo	25
Figura 6	Gene da interleucina 10, demonstrando os polimorfismos e os microsatélites IL10.G e IL10.R	30
Figura 7	Gráfico de barras (IC-95%) comparando os valores médios dos exames de perfil lipídico entre os grupos controle e obesos	42
Figura 8	Perfil ARMS-PCR dos genótipos para SNP-1082 no gene da interleucina 10	43
Figura 9	Distribuição das frequências dos genótipos nos grupos de obesos e controles	46
Figura 10	Distribuição das frequências alélicas nos grupos de obeso e controle	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Estudos de associação entre patologias e polimorfismos do gene da IL-10	32
Quadro 2	Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores e as concentrações usadas na reação de ARMS-PCR para a determinação do polimorfismo -1082G/A na região do promotor do gene da IL-10.	37
Quadro 3	Protocolo de termociclagem usado na reação de ARMS-PCR para a determinação do polimorfismo -1082G/A na região do promotor do gene da IL-10.	37
Quadro 4	Valores de referência do perfil lipídico para indivíduos entre 2 e 19 anos de acordo com a I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na infância e adolescência (2005).	38

INTRODUÇÃO

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 EPIDEMIOLOGIA

A obesidade é um problema mundial de saúde pública, corresponde a uma desordem influenciada por fatores genéticos e ambientais (YU et al., 2012; CERUTTI, 2013) sendo uma importante causa de morbidade e mortalidade nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (BELL et al., 2005). Baseado nas características da doença, a mesma tem sido caracterizada como uma desordem inflamatória de natureza crônica (POPKO et al., 2009; YU et al., 2012). Diversos estudos de polimorfismos associados com a síndrome metabólica têm sido realizados em crianças e adolescentes obesos de diversas regiões do mundo, demonstrando significativa relação com a patologia (CARVALHO FILHO et al., 2011; HSIEH et al., 2012; STOPPA-VAUCHER et al., 2012; TABASSUM et al., 2012; YU et al., 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou, em 2005, que aproximadamente 1,6 bilhões de adultos estavam acima do peso e, ao menos 400 milhões eram obesos. A OMS também estimou que, até 2015, cerca de 2,3 bilhões de adultos estariam acima do peso e mais de 700 milhões seriam obesos (ABESO, 2012). No Brasil, pesquisas mostraram que a taxa de sobrepeso e obesidade da população adulta cresceu nos últimos anos de 43% para 48.1% e de 11% para 15% para o sobrepeso e a obesidade, respectivamente (ABESO, 2012).

Em 2016 cerca de metade da população brasileira encontra-se com sobrepeso, sendo mais frequente entre os homens, 52,6% deles está acima do peso ideal e entre as mulheres, esse valor é de 44,7%, sendo que o excesso de peso inicia ainda na juventude. O levantamento é da Vigitel, e os dados foram coletados em 26 capitais brasileiras e no Distrito Federal (MS, 2014).

Sabidamente a obesidade é uma doença crônica que envolve diversos fatores, tais como sociais, comportamentais, ambientais, culturais, psicológicos, metabólicos e genéticos. Caracteriza-se pelo acúmulo de gordura corporal resultante

do excesso de consumo de calorias e/ou inatividade física (WHO, 1995; BRASIL, 2004). Os dados epidemiológicos da obesidade e os agravos à saúde promovidos por esta patologia refletem a importância e o impacto da doença, seja de forma individual e/ou coletiva, tais como custos alarmantes de cerca de 1,5 bilhões de reais por ano com internações hospitalares, consultas médicas e medicamentos. Desse valor, 600 milhões são investidos pelo governo, por meio do Sistema Único de Saúde (SUS), representando um total de 12% do orçamento gasto com todas as demais doenças (ANJOS, 2006).

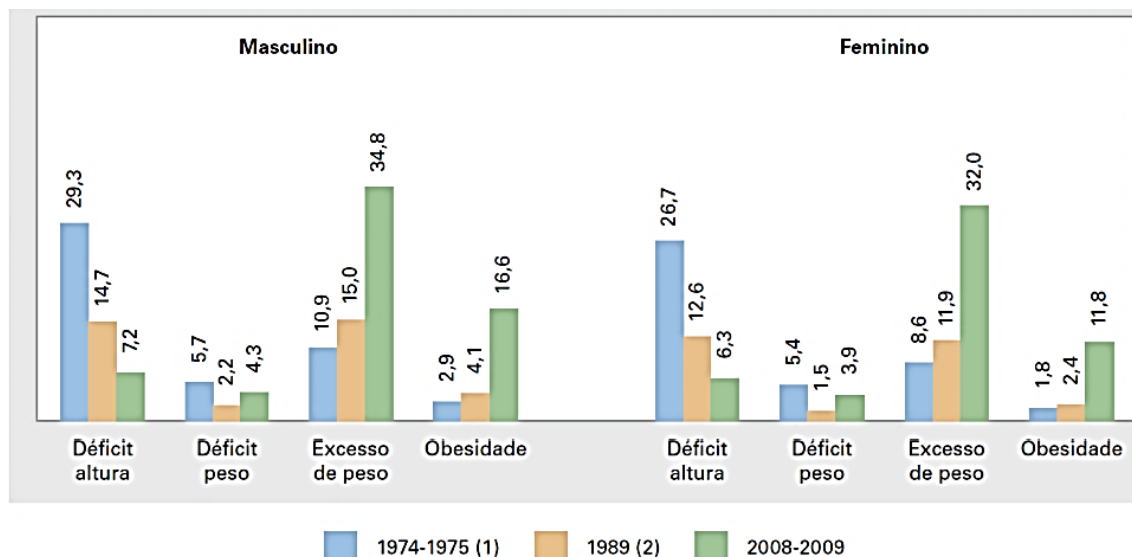
De acordo com um estudo de revisão, a obesidade tem sido observada em todas as faixas etárias da população nos diversos países do mundo. Sua prevalência aumentou nos últimos anos, constituindo um dos maiores problemas da atualidade, atingindo cada vez mais crianças e adolescentes, principalmente em decorrência dos diversos problemas psicossociais acarretados pela doença. Diversas outras doenças estão relacionadas com a obesidade como as dislipidemias, o diabetes, a hipertensão arterial, as doenças respiratórias, a apneia do sono, a litíase biliar, os distúrbios alimentares, os distúrbios dermatológicos, entre outros (ANJOS, 2006).

Dados demonstram que ao longo dos anos houve redução de desnutrição em crianças e aumento de sobrepeso e obesidade, situação definida como “transição nutricional”, caracterizando uma diminuição das doenças transmissíveis e o aumento das doenças crônicas não transmissíveis, tais como a síndrome metabólica. Entretanto, mesmo em virtude das altas prevalências de sobrepeso e obesidade, cerca de 40% da população brasileira vive com insegurança alimentar, de acordo com dados da Pesquisa Nacional por Amostra de domicílios (PNAD, 2004).

Resultados obtidos na Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) de 2008 a 2009 foram comparados com pesquisas de 1974 a 1975 (Estudo Nacional da Despesa Familiar – ENDEF), 1989 (Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição – PNSN) e a POF de 2002 a 2003 (VIGITEL, 2009). Para avaliar o estado nutricional em crianças e adolescentes foi utilizada como referência a curva de 2007 da OMS de Índice de Massa Corporal para idade, específica para cada sexo. Constatou-se, em 2009, que uma entre cada três crianças entre 5 a 9 anos de idade estava acima

do peso. O excesso de peso foi observado em 33,5% das crianças de 5 a 9 anos, sendo que a obesidade atingiu 16,6% dos meninos e 11,8% das meninas.

Ao longo de 34 anos houve um aumento significativo no ganho de peso observado entre as crianças, sendo que entre os meninos o índice observado foi de 34,8% em 2008-2009, 15% em 1989 e 10,9% em 1974-1975. Entre as meninas houve padrão semelhante, 32% em 2008-2009, 11,9% em 1989 e 8,6% em 1974-1975 (**Figura 1**). A análise constatou que a obesidade foi maior na área urbana do que na área rural, sendo 37,5% e 23,9% para meninos e 33,9% e 24,6% para meninas, respectivamente. A região brasileira com maior sobrepeso foi a região Sudeste, sendo 40,3% dos meninos obesos e 38% das meninas (VIGITEL, 2009).



Fontes: 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.

(1) Exclui as áreas rurais das Regiões Norte e Centro-Oeste. (2) Exclui a área rural da Região Norte.

Figura 1. Evolução de indicadores antropométricos na população de 5 a 9 anos de idade por sexo – Brasil – Períodos 1974-1975, 1989 e 2008-2009.

Disponível em www.abeso.org.br/uploads/downloads/17/552fe9fd73248.pdf

Dados da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), realizada entre o período de 2013 e 2014, demonstraram que cerca de 40% da população adulta de Goiás possui pelo menos uma doença crônica não transmissível (DCNT), incluindo a obesidade (MS, 2014). O levantamento, realizado pelo Ministério da Saúde em parceria com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), revelou que essas enfermidades atingem principalmente o sexo feminino (47,5%) - são 1,1 milhões de mulheres e 703 mil homens (31,2%) portadores de enfermidades crônicas. No Brasil,

o índice atinge cerca de 40% da população, o equivalente a 57,4 milhões de pessoas. A pesquisa Vigitel, do Ministério da Saúde, realizada no ano de 2012, demonstrou que 51% da população brasileira está acima do peso. Em 2006, o percentual de obesos no Brasil era de 43% (MS, 2014).

Diversos estudos correlacionam a obesidade a outras doenças crônico-degenerativas, tais como a dislipidemia, a hiperinsulinemia, o diabetes mellitus tipo 2 (DM2), os níveis altos de colesterol e de triglicérides, a hipertensão arterial, a aterosclerose, mais recentemente a esteatose hepática não alcoólica e alguns tipos de câncer, que, em conjunto, contribuem para o aumento da morbimortalidade em todo o mundo (TOCK et al., 2006; FOSTER-SCHUBERT; CUMMINGS, 2006; BOCHUKOVA et al., 2010; CHANG et al., 2013). Essas alterações, com exceção do câncer, coletivamente, compreendem o diagnóstico da síndrome metabólica (SM). Assim como a obesidade, a SM tem sua etiologia associada a fatores genéticos e ambientais (TOCK et al., 2006; FOSTER-SCHUBERT; CUMMINGS, 2006).

A obesidade também está associada ao desenvolvimento de outros problemas tais como psicológicos, ósseos e articulares, alterações no sono, hipertensão, hipercolesterolemia, enfermidades cardiovasculares, distúrbios hepáticos, depressão, queda no rendimento escolar, transtornos que levam à bulimia e anorexia nervosa e problemas cutâneos (CATANEO et al., 2005; CARVALHO et al., 2011).

O tecido adiposo é considerado um órgão endócrino responsável por secretar várias adipocinas envolvidas na regulação metabólica, assim como em processos inflamatórios (GREENBERG; OBIN, 2006). A desregulação da função endócrina e a inflamação do tecido adiposo podem induzir a um baixo grau de inflamação sistêmica e a resistência à insulina em pacientes obesos, que estão implicadas na fisiopatologia da diabetes mellitus tipo 2 (DM2), aterosclerose, hipertensão, e síndrome metabólica (KANG et al., 2016). As diversas citocinas inflamatórias exercem influência significativa no desenvolvimento e na manutenção da obesidade por seu papel na regulação da homeostase energética e do metabolismo (POPKO et al., 2009).

Têm sido demonstrado evidências da relação entre anormalidades em mediadores inflamatórios e a obesidade. Um estudo realizado com pacientes entre 6 e 16 anos do Hospital Universitário Infantil de Genebra em 2012 estimou que os níveis de citocinas pró-inflamatórias (MCP-1, IL-6) foram significativamente maiores em crianças obesas em comparação com o grupo controle, mesmo antes da puberdade (STOPPA-VAUCHER et al., 2012). Outro estudo feito com 925 adolescentes em Taiwan avaliou a relação entre o polimorfismo do receptor de interleucina-6 (*IL-6R*) 48892 A/C e a síndrome metabólica, demonstrando que a variante genética *IL-6R*, rs8192284, está significativamente associada com características de síndrome metabólica, principalmente em adolescentes do sexo feminino, havendo uma possível interação gene-gênero do polimorfismo *IL-6R* com síndrome metabólica em adolescentes de Taiwan (HSIEH et al., 2012).

Um estudo realizado em 2013 avaliou 325 adolescentes chineses e a possível relação entre a obesidade e a interleucina 1 beta (*IL1β*) e interleucina 10 (*IL-10*), confirmando que a baixa concentração de *IL-10* está associada com excesso de peso e obesidade em jovens adolescentes. Além disso, a diminuição na concentração de *IL-10* em adolescentes com sobrepeso e obesidade pode contribuir ainda mais para o ambiente inflamatório da *IL1β* associado à obesidade (CHANG et al., 2013).

A *IL-10* é uma citocina anti-inflamatória capaz de inibir a síntese de adipocinas pró-inflamatórias por linfócitos T e macrófagos (SIPPEL et al., 2014) e em níveis diminuídos na obesidade acarreta o aumento de algumas citocinas pró-inflamatórias, tais como *IL1*-beta, *IL-6*, *IL-8* e *IL-16* (CALCATERRA et al., 2009; TAM et al., 2010; CHANG et al., 2013; GAO et al., 2014; SIPPEL et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015).

Ainda sobre o estudo de Chang e colaboradores (2013), com adolescentes em Taiwan, foram comparados indivíduos normais com indivíduos com sobrepeso demonstrando uma relação inversamente proporcional entre a *IL-10* e as citocinas pró-inflamatórias (*TNF-α* e *IL-1β*), contribuindo dessa forma para o desenvolvimento de um ambiente inflamatório associado à obesidade.

A IL-10 é uma citocina pleiotrópica sintetizada pelos linfócitos T, linfócitos B, células T auxiliares, monócitos e macrófagos. Regula o sistema imune por meio de suas propriedades anti-inflamatórias, inibindo a expressão e a síntese das citocinas pró-inflamatórias, exercendo uma espécie de feedback negativo. O efeito anti-inflamatório exercido no sistema vascular ocorre através da inibição das interações celulares endoteliais (CAMs) e leucocitárias, inibição de quimiocinas por macrófagos ou linfócitos (FIORENTINO et al., 1989; O'GARRA; VIEIRA, 2007; MAYNARD; WEAVER, 2008).

A relação entre a IL-10 e a obesidade tem sido estudada devido a essa propriedade regulatória do sistema imune pela IL-10. Diversos estudos demonstram que indivíduos que não apresentavam obesidade possuíam maiores valores de IL-10, quando comparados com indivíduos com sobrepeso e obesidade (HAN et al., 2010; CHANG; LI; et al., 2014; GAO et al., 2014; SIPPEL et al., 2014; PENG et al., 2015; PINHEIRO VOLP et al., 2015; RODRIGUES et al., 2015). Entretanto dois estudos contradizem com a maioria dos resultados obtidos na literatura por apresentar níveis séricos de IL-10 maiores em pacientes obesos em relação aos controles eutróficos (CALCATERRA et al., 2009; TAM et al., 2010).

No estudo de Calcaterra e colaboradores (2009) foi examinada a relação entre adiponectina, IL-10 e síndrome metabólica infanto juvenil. Foram avaliadas 70 crianças e adolescentes obesos e 30 controles, sendo que os níveis séricos de adiponectina no grupo controle foram significativamente inferiores e os níveis de IL-10 foram significativamente mais elevados. Além da adiponectina e IL-10 foram avaliados também glicemia de jejum, insulina, colesterol total, colesterol HDL e triglicérides de todos os indivíduos, apresentando valores aumentados desses parâmetros no grupo obeso.

Tam e colaboradores (2010) analisaram a associação entre as interleucinas 6, 8 e 10 e a obesidade em crianças de 8 a 15 anos. Nesse estudo foram avaliados 59 indivíduos obesos e 118 controles. Foi evidenciado nas meninas de 15 anos níveis elevados de IL-6, IL-8 e IL-10, em comparação aos controles, o que não foi evidenciado nos meninos.

Elevados níveis de IL-10 também foram relatados em outras condições inflamatórias e podem indicar um mecanismo de regulação com o propósito de inibir a inflamação regulando negativamente a secreção de citocinas pró-inflamatórias (WAAL MALEFYT, DE et al., 1991; NISSINEN et al., 2004).

1.2 OBESIDADE

Segundo a OMS, a ocorrência da obesidade reflete a interação entre fatores dietéticos e ambientais com uma predisposição genética, sendo definida como o acúmulo excessivo ou anormal de gordura, que pode resultar em danos à saúde do indivíduo, e é considerada um dos principais problemas de saúde pública (WHO, 1995). O fenótipo da obesidade é decorrente de múltiplas causas e fatores (JEBB, 1997). Os princípios mendelianos e a influência do genótipo na etiologia podem ser atenuados ou exacerbados por fatores não genéticos, como o ambiente externo e as interações psicossociais que atuam sobre mediadores fisiológicos de gasto e consumo energético (FRANCISCHI et al., 2000).

A antropometria é considerada um método satisfatório para rastrear a obesidade, por ser acessível, de baixo custo, não invasivo, universalmente aplicável e com boa aceitação pela população. Índices antropométricos são obtidos a partir da combinação de duas ou mais informações antropométricas básicas, tais como peso, sexo, idade e altura (WHO, 1995). A utilização do Índice de Massa Corporal (IMC) para identificar adultos com sobrepeso e obesidade é consensual, e seu uso na avaliação nutricional de crianças e adolescentes baseia-se nos valores de percentis por idade e sexo (MUST et al., 1991). Tais valores são considerados atualmente como referência pela OMS para identificar sobrepeso e obesidade em adolescentes, não sendo recomendados para crianças, as quais devem ser avaliadas com o índice peso/altura (WHO, 1995).

Considerando-se a avaliação de dados antropométricos em crianças preconiza-se considerar a idade e o sexo como principais parâmetros para evidenciar o desenvolvimento e à proporção que as medidas antropométricas são

associadas à idade e ao sexo. O resultado destes índices comparado a uma referência ou padrão antropométrico é denominado de indicador antropométrico (WHO, 1995). A Organização Mundial de Saúde (WHO, 1995) recomenda a utilização do Índice de Massa Corporal (IMC) para o diagnóstico do estado nutricional de grupos populacionais por ser um método não-invasivo, válido e de baixo custo (NIHISER et al., 2007).

O IMC consiste na relação entre a massa de um indivíduo e a sua altura. Para determinar o IMC, divide-se o peso (massa) pela sua altura ao quadrado. A massa deve ser definida em quilogramas (Kg) e a altura em metros (WHO, 1995). Tem-se identificado o ponto de corte para adultos com base na associação entre IMC e doença crônica ou mortalidade. A classificação adaptada pela Organização Mundial da Saúde OMS (WHO, 2000), apresentada na tabela 1, baseia-se em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus. Na população brasileira, utilizaram-se, em alguns estudos, os mesmos pontos de corte propostos pela OMS, indicando também ser um eficaz valor preditivo de risco para doenças metabólicas, principalmente hipertensão arterial (CARNEIRO et al., 1992).

Em 2007 a OMS propôs um critério de classificação do estado nutricional para crianças e adolescentes entre 5 e 19 anos de idade (**figuras 2 e 3**), com a finalidade de monitorar e acompanhar o público infante juvenil de vários países (WHO, 2007). Esse recente critério foi desenvolvido a partir de reprocessamento dos dados para se adequar ao padrão de crescimento das crianças com idade inferior a cinco anos, através de um estudo realizado pela OMS em 2006, e aos pontos de corte definidos para a classificação do estado nutricional em adultos (ONIS, DE et al., 2007).

Tabela 1 – Classificação de Peso pelo IMC (B)		
Classificação	IMC(kg/m ²)	Risco de Comorbidades
Baixo peso		Baixo
Peso normal	18,5-24,9	Médio
Sobrepeso	≥25	—
Pré-obeso	25-29,9	Aumentado
Obeso I	30,0-34,9	Moderado
Obeso II	35,0-39,9	Grave
Obeso III	≥40	Muito grave

Tabela 1. Classificação de IMC para adultos segundo a Organização Mundial de Saúde (“<http://www.abeso.org.br/pdf/diretrizes2010.pdf>”)

As figuras 2 e 3 representam a classificação de IMC para meninas e meninos, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2007).

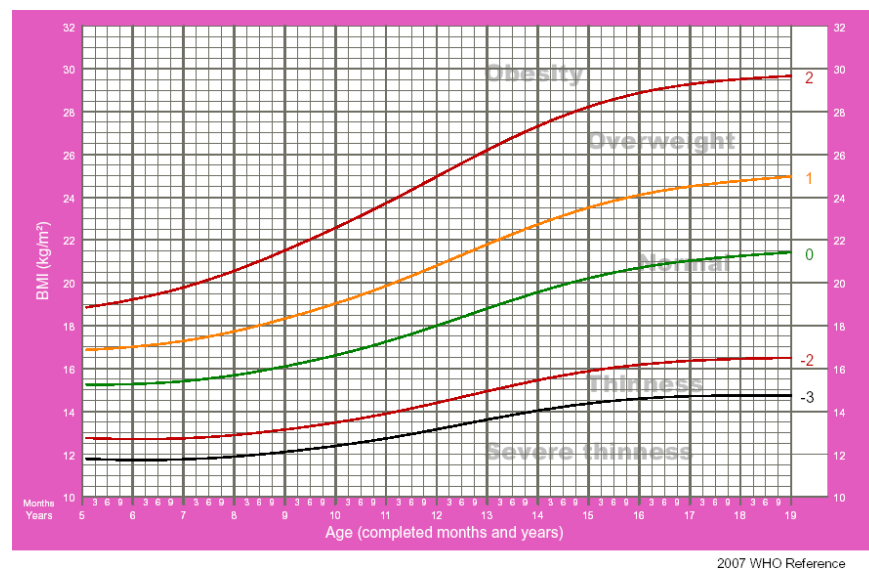


Figura 2. Curva de IMC para meninas de 5 a 19 anos.

Disponível em <http://www.who.int/growthref>

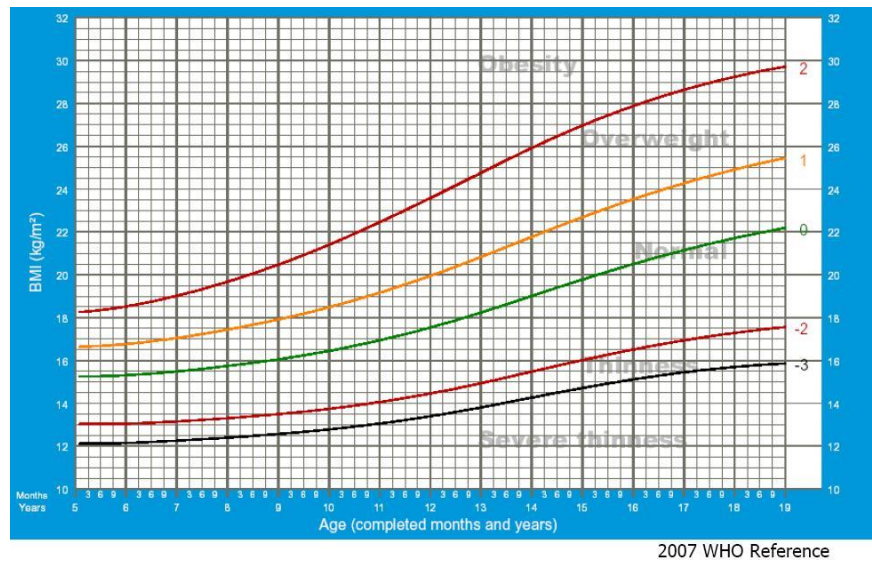


Figura 3. Curva de IMC para meninos de 5 a 19 anos

Disponível em <http://www.who.int/growthref>

1.3 FISIOPATOLOGIA E ASPECTOS IMUNOLÓGICOS NA OBESIDADE

O acúmulo de gordura observado na obesidade é causado por um desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto de energia. O balanço entre a ingestão e o gasto de energia é controlado por um complexo e poderoso sistema biológico, comandado pelo sistema nervoso central (SNC). Falhas neste sistema podem levar ao surgimento e agravamento da obesidade (SANDE-LEE, VAN DE; VELLOSO, 2012).

O controle homeostático do balanço energético corporal é exercido por populações específicas de neurônios situados principalmente no hipotálamo (VELLOSO; SCHWARTZ, 2011). O controle do balanço energético é realizado pelo sistema nervoso central (SNC) por meio de conexões neuroendócrinas, nas quais os hormônios periféricos circulantes, como a leptina e a insulina, sinalizam neurônios especializados do hipotálamo sobre a reserva de gordura do organismo e induzem as respostas apropriadas para a manutenção do equilíbrio dessa reserva. A maioria

dos casos de obesidade se associa a um quadro de resistência central à ação da leptina e da insulina (SANDE-LEE, VAN DE; VELLOSO, 2012).

O tecido adiposo é formado por diferentes tipos celulares e teciduais: nele encontram-se os tecidos conjuntivo, de vascularização, fibras nervosas, fibroblastos, as células adiposas e células do sistema imune como os macrófagos e os linfócitos. Os adipócitos são as células responsáveis por armazenar o excesso calórico ingerido sob a forma de triacilgliceróis, ou triglicerídeos, constituintes fundamentais da gordura (FONSECA-ALANIS et al., 2006). A maior parte do tecido adiposo se apresenta como tecido adiposo branco, tendo profunda relação com a ocorrência da obesidade. Este tecido secreta múltiplos peptídeos bioativos denominados adipocinas, que são proteínas sintetizadas e secretadas pelo tecido adiposo com diferentes funções biológicas, ilustrado na **figura 4** (PRADO et al., 2009).



Figura 4. Funções biológicas exercidas pelo tecido adiposo.

<http://ddcnovasperspectivas.blogspot.com.br/2013/07/tecido-adiposo-um-orgao-endocrino.html>

A expansão do tecido adiposo ocasionada pela obesidade associa-se com o aumento da infiltração de macrófagos, sendo que fatores derivados de macrófagos, tais como algumas citocinas pró-inflamatórias que alteram a função adipócita, levam à indução de respostas inflamatórias e além disso diminuem a resistência à insulina (GAO et al., 2014). A figura 5 representa a hipertrofia do tecido adiposo que induz à

infiltração e proliferação de macrófagos e alteração na secreção de adipocinas levando à inflamação crônica de baixa intensidade e à resistência insulínica (GALIC et al., 2010).

Tais alterações tem relação direta por exemplo com a síndrome metabólica (SM) que corresponde ao conjunto de fatores de risco para doenças cardiovasculares, entre as quais estão a obesidade, a hipertensão, a hiperinsulinemia, a intolerância à glicose e a dislipidemia. A SM está associada a um baixo grau de inflamação do tecido adiposo branco, que pode conseqüentemente levar à resistência à insulina, à tolerância diminuída à glicose e ao diabetes (CARDINALI; HARDELAND, 2016).

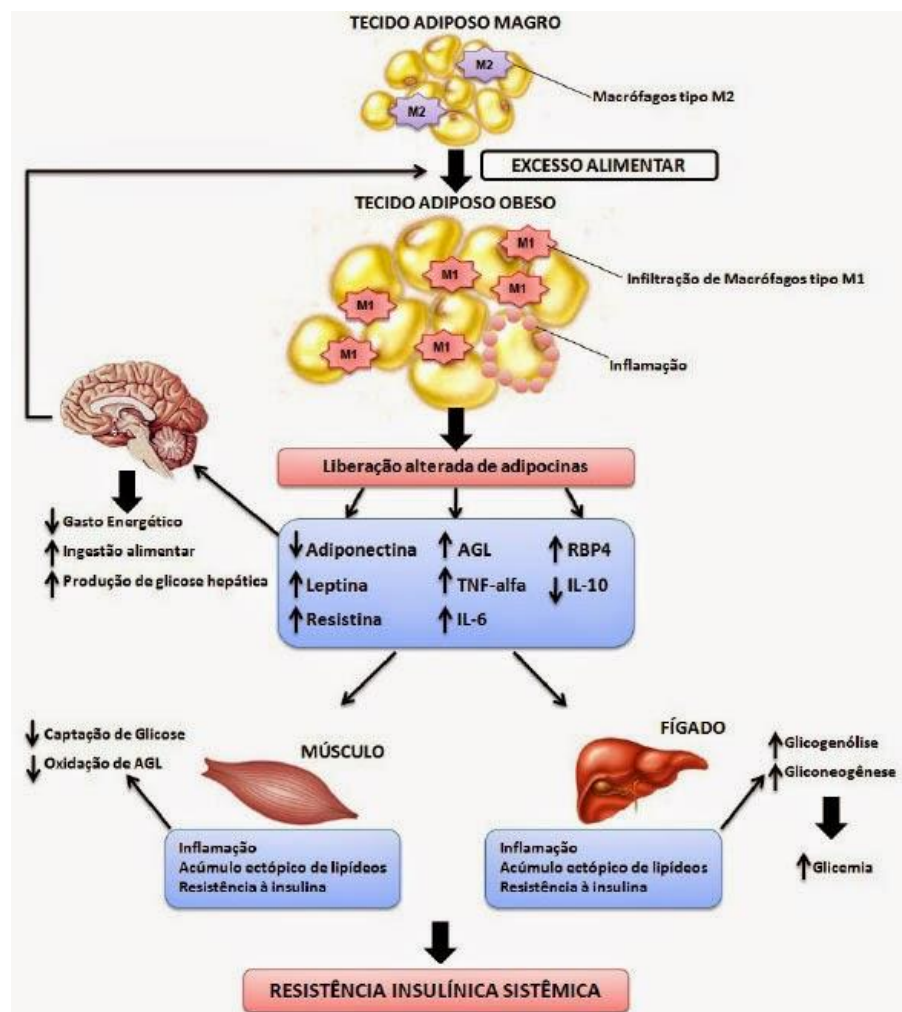


Figura 5. Hipertrofia do tecido adiposo.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2009.08.018>

As citocinas são definidas como proteínas solúveis sintetizadas por células imunes ou não, que mediam a comunicação intracelular por transmitirem informações às células-alvo, via interações com receptores específicos. Adipocina é um termo universal adotado para descrever a proteína que é sintetizada e secretada pelo tecido adiposo, sendo altamente diversificada em termos de estrutura protéica e função fisiológica. Elas incluem citocinas clássicas, fatores de crescimento e proteínas sistêmicas complementares envolvendo na regulação da pressão arterial, homeostase vascular, metabolismo lipídico, glicídico e angiogênese (PRADO et al., 2009).

As adipocinas compreendem proteínas relacionadas ao sistema imune - fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e interleucina 10, fatores de crescimento (fator de crescimento transformador β - TGF- β) e proteínas da via alternativa do sistema complemento (adipsina). Algumas adipocinas estão envolvidas na regulação da pressão (angiotensinogênio), da coagulação sanguínea (inibidor do ativador de plasminogênio 1, PAI-1), da homeostase glicêmica (adiponectina, resistina, visfatina, leptina) e da angiogênese - fator de crescimento endotelial vascular (FRÜHBECK et al., 2001).

As citocinas pró-inflamatórias podem causar resistência à insulina desencadeando efeitos negativos, devido ao desequilíbrio entre as citocinas anti-inflamatórias e as citocinas pró-inflamatórias, podendo desencadear obesidade, diabetes tipo 2, entre outras doenças. A interleucina 10 é a principal citocina anti-inflamatória que atua no sistema imune, desencadeando a resposta anti-inflamatória mediada por macrófagos e linfócitos e inibindo consideravelmente a produção das citocinas pró-inflamatórias (DONNELLY et al., 1999; SCHOTTELIUS et al., 1999; MOORE et al., 2001).

A IL-10 é um polipeptídeo homodimérico de 17 kDa, descrito como um fator produzido por linfócitos T auxiliares (tipo 2) com propriedades inibitórias em clones de linfócitos T auxiliares (tipo 1), atuando na resposta proliferativa e na produção de citocinas. Essa citocina é produzida por diversos tipos celulares, principalmente por macrófagos e linfócitos T. A IL-10 é o principal inibidor da produção de citocinas e da atividade funcional de macrófagos, regulando negativamente a síntese das citocinas pró-inflamatórias (MALEFYT, 1999). Atua de

modo anti-inflamatório modulando principalmente as respostas crônicas, especialmente regulando respostas com predomínio da ação do TNF- α (BOLGER et al., 2002; DENYS et al., 2002).

A IL-10 é também capaz de inibir a síntese de adipocinas pró-inflamatórias por linfócitos T e macrófagos (SIPPEL et al., 2014), sendo capaz de inibir a produção de citocinas como o IFN- γ , citocina chave produzida pelas células TH1 (VRIES, DE, 1995; FERNÁNDEZ RP, 2002). A IL-10 é também produzida por linfócitos T reguladores, além de células T helper do tipo II e macrófagos (FIORENTINO et al., 1989). Alguns mecanismos têm sido propostos para explicar a forma com que a IL-10 inibe a síntese de adipocinas pró-inflamatórias. Um dos mais estudados é a inibição da ativação do fator de transcrição nuclear NF- $\kappa\beta$ em monócitos (FERNÁNDEZ RP, 2002).

A IL-10 pode atuar sobre diferentes tipos celulares, induzindo a supressão da resposta inflamatória nos mais variados tecidos (MALEFYT, 1999). Além disso, a IL-10 tem sido postulada como a principal molécula responsável pelo orquestramento de reações anti-inflamatórias, em particular a inibição das alterações mediadas pelo TNF- α (MALEFYT, 1999; MOORE et al., 2001). Sua ação anti-inflamatória inibe a síntese de citocinas pró-inflamatórias e estimula a proliferação e a diferenciação das células especializadas, como populações de linfócitos imunoreguladores (HAJJER et al., 1998).

Estudos relataram que baixos níveis de IL-10 têm relação com a obesidade e síndrome metabólica e a baixa produção de IL-10 está associada com diabetes tipo 2 e hiperglicemia (EXEL, VAN et al., 2002; ESPOSITO et al., 2003).

Alguns polimorfismos no promotor do gene da IL-10 têm sido associados com o problema em indivíduos caucasianos, tais como os polimorfismos 1082 G/A, 819 C/T e 592 C/A (TURNER et al., 1997; CRAWLEY et al., 1999; HUTCHINSON et al., 1999; KOSS et al., 2000).

Um estudo em 2013 fez associação entre o polimorfismo IL-10-1082 A/G e o risco de desenvolver diabetes mellitus tipo 2. Uma meta análise de 4250 indivíduos

evidenciou uma significativa associação entre o polimorfismo -1082 A/G do gene da IL-10 e o risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2 (YIN et al., 2013).

Outro estudo realizado no Brasil investigou polimorfismos de citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias em pacientes com diabetes tipo 2 e suas complicações. Foram analisados 102 pacientes com diabetes tipo 2 e outras comorbidades, tais como obesidade, hipertensão e dislipidemias, em associação com polimorfismos de genes de citocinas TNF- α , IL-10, IL-6, TGF- β 1 e IFN- γ . O estudo concluiu que polimorfismos TGF- β 1 e IL-10 estão envolvidos em complicações e comorbidades nos pacientes com diabetes tipo 2. Retinopatias diabéticas foram associadas com o genótipo G/G no polimorfismo do genótipo G/G TGF- β 1, nefropatias foram associadas à baixa frequência do genótipo G/G no polimorfismo da IL-10 -1082 G/A, hipertensão foi associada com o genótipo C/C no polimorfismo da IL-10 -592 C/A e altas frequências associadas com os pacientes com alto IMC (RODRIGUES et al., 2015).

Diversos estudos demonstram que pacientes com a síndrome metabólica, assim como a obesidade apresentavam níveis diminuídos da interleucina-10 e consequentemente aumento das citocinas pró-inflamatórias (ARSLAN et al., 2010; CHANG et al., 2013; HAN et al., 2014). Sabe-se que a IL-10 inibe a síntese de citocinas pró-inflamatórias pelos monócitos (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , INF- γ , GM-CSF e G-CS) bem como expressão das moléculas de classe II do complexo histocompatibilidade principal em monócitos e macrófagos (MALEFYT, 1999). A presença de IL-10 foi demonstrada em placas ateroscleróticas. Observou-se em estudos com animais que níveis baixos de IL-10 levaram ao desenvolvimento de lesões ateroscleróticas morfológicamente maiores e mais instáveis. As evidências disponíveis sugerem um potencial papel protetor de IL-10 no desenvolvimento de aterosclerose (FERNÁNDEZ RP, 2002).

A inflamação crônica é conhecida por promover a desregulação metabólica na obesidade e no diabetes do tipo 2. A resposta inflamatória observada na obesidade ainda não é clara, porém o excesso de citocinas pró-inflamatórias, ocasionado pela diminuição de IL-10 afeta o metabolismo. Uma pesquisa realizada em 2014 correlacionou obesidade e hiperinsulinemia com aumento de TNF- α como um

elemento que pode contribuir para a incapacidade das células em responder à insulina, ocasionando a hiperinsulinemia (HAN et al., 2014).

Nessa mesma linha de pesquisa, outro estudo avaliou a associação entre a IL-10 e a síndrome metabólica em crianças, verificando se as mudanças das concentrações séricas das citocinas anti-inflamatórias apresentavam relação com a síndrome metabólica. Foram avaliadas 553 crianças, entre 8 e 13 anos e analisados parâmetros para a obesidade, citocinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias e perfis de risco metabólico (CHANG; BAI; et al., 2014). Os resultados desse estudo demonstraram que as crianças com sobrepeso e obesidade apresentaram menores concentrações séricas de IL-10. Além disso, a associação entre IL-10 e as concentrações de insulina foram menores nas crianças com sobrepeso/obesas em comparação com o grupo normal (CHANG; BAI; et al., 2014).

1.4 FATORES GENÉTICOS

Um polimorfismo genético é definido como a ocorrência de múltiplos alelos num locus, onde no mínimo dois alelos aparecem com frequências superiores a 1%. O polimorfismo em nucleotídeo único (SNP) é o tipo mais comum, e a sua ocorrência é estimada em 10 milhões de SNP no genoma humano. Quando um polimorfismo não altera o aminoácido, pode-se dizer que a alteração genética é silenciosa. Porém, quando há alteração na expressão e/ou função da proteína, denomina-se polimorfismo funcional (KINANE; HART, 2003).

Alguns SNPs afetam a sequência de aminoácidos de uma determinada proteína, porque se localizam dentro de éxons, regiões gênicas que serão codificadas e expressas. Esse tipo de SNP é denominado estrutural e é responsável por mudanças na estrutura protéica com perda ou redução da função original ou da capacidade de ligação da mesma (NUSSBAUM, 2002).

Os SNPs encontrados em regiões reguladoras/promotoras de um gene ou em regiões gênicas não-codificantes (íntrons) não promovem mudanças na sequência de aminoácidos da proteína, mas podem alterar a capacidade de transcrição gênica e, conseqüentemente sua produção local ou sistêmica. Este tipo de polimorfismo é denominado funcional porque promove diferenças na síntese e secreção de

proteínas e são os mais pesquisados em estudos de associação de doenças, por evidenciarem geneticamente a produção diferencial de certas moléculas entre os indivíduos afetados (OLLIER, 2004).

O gene da IL-10 está localizado no cromossomo 1 em 1q31-32 e se estende por cerca de 4,7 Kb, contendo quatro íntrons e cinco éxons (TRIFUNOVIĆ et al., 2015). O gene da IL-10 corresponde a um polimorfismo de um único nucleotídeo, identificado no promotor do gene, correspondendo à substituição de base de guanina por adenina na posição -1082 (SNP-1082G/A), que tem sido associado à produção diferencial da IL-10 (STRACHAN, 2002). Existem muitas variantes genéticas do gene de IL-10. Entretanto, os mais estudados correspondem à duas repetições dinucleotídeos (microsatélites), IL10.G e IL10.R, localizadas a 1,2 Kb e 4 Kb do local de início da transcrição (TRIFUNOVIĆ et al., 2015).

Dentre os diversos polimorfismos de base simples (single nucleotide polymorphisms ou SNPs) encontrados no promotor do gene da IL-10, três (-1082G/A, 819C/T e 592C/A) têm importância especial por sua localização próxima à fatores de transcrição e pela característica de serem herdados na forma de haplótipos ao longo das gerações (MINNICELLI et al., 2012), sendo que predominam três haplótipos GCC, ACC e ATA (TRIFUNOVIĆ et al., 2015).

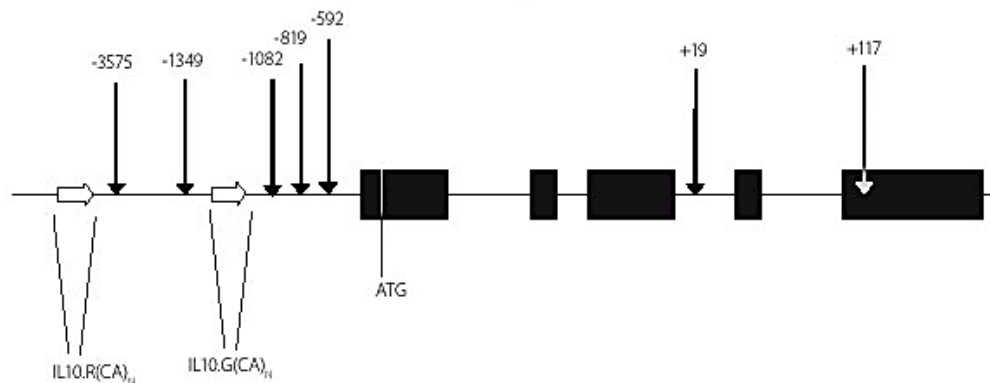


Figura 6. Gene da interleucina 10, demonstrando os polimorfismos e os microsatélites IL10.G e IL10.R, segundo Casas & Gutiérrez, 2008.

Disponível em http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012393922008000100005

Estudos demonstraram que os polimorfismos do gene da IL-10 estão associados com várias doenças e desempenham um papel importante na fisiopatologia e curso clínico destas doenças (BELL et al., 2005; TRIFUNOVIĆ et al., 2015; ESPERANÇA et al., 2015; JIANG et al., 2015).

Além da obesidade, síndrome metabólica e diabetes, outras doenças apresentaram associação com polimorfismos do gene da IL-10. Um estudo de revisão destacou a relação do polimorfismo de IL-10 com doenças autoimunes e algumas neoplasias (TRIFUNOVIĆ et al., 2015). Foi relatado ainda que o polimorfismo da IL-10-1082 A/G está relacionado à isquemia cerebral (JIN et al., 2014; JIANG et al., 2015), aterosclerose e aneurisma vascular da aorta (CHAO et al.; ARMINGOHAR et al., 2015; YU et al., 2015; ESPERANÇA et al., 2015).

A obesidade tem sido associada a um risco aumentado de desenvolver nefropatia diabética. Um estudo realizou uma meta-análise para investigar a associação entre o polimorfismo -1082A/G da interleucina 10 e o risco de nefropatias diabéticas. Nesse estudo caso-controle com 4165 indivíduos constatou-se que o polimorfismo IL10-1082 A/G foi significativamente associado com um risco aumentado de desenvolver nefropatia diabética (PENG et al., 2015).

Um estudo recente também associou a obesidade a um risco aumentado de desenvolver nefropatia diabética. Esse estudo investigou os efeitos da eficácia de uma dieta de baixa proteína (LPD) na nefropatia diabética associada à diabetes do tipo 2 e obesidade. Concluiu-se que uma dieta de baixa proteína melhora as lesões renais diabéticas associadas à obesidade (KITADA et al., 2016).

O quadro 1 estabelece uma relação entre os principais estudos realizados ao longo dos últimos anos associando principalmente a obesidade às alterações das citocinas séricas, em especial os níveis séricos da IL-10.

Autores	Ano	Citocinas	Patologia	Resultados
Prado et al	2009	IL 6, IL 10, TNF- α , leptina e adiponectina	Obesidade	Baixas concentrações de citocinas pró-inflamatórias e altas concentrações de citocinas inflamatórias em indivíduos obesos
Calcaterra et al	2009	adiponectina, IL-10	Obesidade	Níveis séricos de adiponectina foram inferiores e níveis de IL-10 foram significativamente mais elevados em crianças e adolescentes obesos
Arslan et al	2010	IL-6, IL-10 e TNF- α	Obesidade	Diminuição de IL-10 , aumento de TNF- α IL-6 associado à obesidade
Tam et al	2010	IL-6, IL-8 and IL-10	Obesidade	Níveis elevados de L-6, IL-8 and IL-10 em meninas obesas
Chang et al	2013	IL10 e IL 1 beta	Obesidade	Baixa concentração de IL-10 associada com obesidade em adolescentes
Chang et al	2013	IL10, TNF- α e 1 beta	Obesidade	Relação inversamente proporcional entre a IL 10 e TNF- α /IL 1 beta em adolescentes obesos
Jiang et al	2013	IL-10-1082 A/G	Isquemia cerebral	Associação entre IL-10 -1082 A/G e isquemia cerebral
Yin et al	2013	IL-10-1082 A/G	Diabetes	Associação de IL-10 -1082 G ao risco de diabetes tipo 2
Chang et al	2014	IL-10	Síndrome metabólica	Baixas concentrações séricas de IL-10 em crianças com sobrepeso e obesidade
Han et al	2014	IL-10	Obesidade	Diminuição na produção de IL-10 relacionada à obesidade
Sippel et al	2014	IL 6, IL 10, TNF- α , resistina	Obesidade	Diminuição das citocinas anti-inflamatórias (IL 10) e aumento das citocinas pró-inflamatórias em obesos
Peng et al	2015	IL10-1082A / G	Diabetes	Risco aumentado de nefropatia diabética em caucasianos e asiáticos relacionado à IL-10 1082A / G
Rodrigues et al	2015	TNF- α , IL-6, IL-10, TGF-	Diabetes	Nefropatia diabética associada ao polimorfismo IL-10 -1082G/A
Trifunovic et al	2015	IL-10	Doenças autoimunes	Baixa expressão de citocinas anti-inflamatórias IL-10
Esperança et al	2015	IL-10-1082 A/G	Aterosclerose	Associação entre IL-10 -1082 A/G e aterosclerose e doença arterial coronariana
Yu et al	2015	IL-10(-1082 A/G, -819 T/C, -592 A/C)	Aterosclerose	Associação entre os polimorfismos do promotor do gene da IL-10 e aterosclerose
Kang et al	2015	TNF- α e MCP-1	Obesidade	Aumento dos níveis de TNF-alfa e MCP-1 em obesos

Quadro 1. Estudos de associação entre patologias e polimorfismos do gene da IL-10

Fonte: Próprio autor

A obesidade representa na atualidade um grave problema de saúde pública com profundo impacto na sociedade. Tem sido evidenciado como resultante de sua natureza genética e ambiental uma resposta inflamatória expressiva que por meios de diferentes mediadores potencializam as principais características da enfermidade. Evidências têm sido apontadas quanto à participação do tecido adiposo na indução da resposta inflamatória crônica que supostamente induz a desregulação metabólica que é a base para diferentes enfermidades. Um dos mediadores com suposta relação à doença é a IL-10, a qual tem demonstrado relação inversa desse mediador com o desenvolvimento da doença, justificando-se o desenvolvimento do presente estudo.

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem como finalidade avaliar polimorfismo de citocina anti-inflamatória IL-10 e a sua possível relação com a obesidade infanto juvenil, uma vez que a produção em níveis anormais de tais mediadores pode ter influência direta sobre o metabolismo e a homeostase energética (POPKO et al., 2009).

2.1 Objetivo geral

2.1.1. Avaliar o polimorfismo da citocina anti-inflamatória IL-10 e a sua possível relação com a obesidade infanto juvenil.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1. Investigar a relação entre o polimorfismo genético do SNP-1082 G/A da interleucina IL-10 e a obesidade em crianças e adolescentes com faixa etária entre 5 e 16 anos;

2.2.2. Determinar as frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo do gene candidato da interleucina-10;

2.2.3. Correlacionar os resultados com o perfil lipídico dos grupos avaliados, de acordo com o colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicérides;

2.2.4. Estudar a relação entre o polimorfismo do gene candidato e a obesidade infanto juvenil.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo tipo caso-controle, projetado para investigar a potencial relação entre a obesidade e dislipidemias de início na infância e o polimorfismo genético analisado. As análises moleculares foram conduzidas no LaGene - Laboratório de Citogenética Humana e Genética Molecular da Secretaria de Saúde do Estado de Goiás (LaGene/Lacen/SES-GO) e no NPR - Núcleo de Pesquisas Replicon, vinculados à Pontifícia Universidade Católica de Goiás em conjunto com o Consultório de Endocrinologia Infantil do Hospital da Criança e o Laboratório Núcleo.

3.2 Grupo Amostral

Um total de 93 pacientes com faixa etária entre 5 e 16 anos foram avaliados, que procuraram o consultório de endocrinologia pediátrica do Hospital da Criança. Os pacientes foram divididos em dois grupos sendo 48 pacientes obesos e 45 pacientes eutróficos/grupo controle. Os controles corresponderam a indivíduos saudáveis e com ausência de sinais clínicos de obesidade.

Os critérios de exclusão para os dois grupos incluíram sobrepeso, desnutrição, doenças crônicas graves, presença de síndromes genéticas, doenças cujo tratamento empregasse medicações que alterem o peso (glicocorticóides, hormônio de crescimento, insulina, análogos do GnRH, etc.).

Os pais e/ou responsáveis foram entrevistados e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – vide Apêndice A) para a participação no estudo e a utilização dos dados para pesquisa. O acompanhante responsável durante a consulta respondeu a um questionário sobre os hábitos de vida da criança e da família (alimentação, nível de exercício físico), presença de doenças relacionadas à obesidade (diabetes mellitus, hipertensão arterial, dislipidemia, IAM e AVC), e informou a altura dos pais biológicos e peso máximo que cada genitor tinha apresentado durante a vida, excluindo período da gravidez materna, para cálculo de

IMC máximo dos pais. Em alguns casos, devido à adoção ou ausência de genitor não foi possível coletar as informações referentes aos pais.

Os indivíduos analisados foram classificados em controles e obesos de acordo com a ficha clínica preenchida pela médica responsável (Vide Apêndice B).

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi utilizado para estabelecer o grupo amostral dos indivíduos analisados, e a respectiva distinção entre obesos e controles, com parâmetros de interpretação propostos pela OMS (WHO, 1995). A antropometria baseada no peso e altura para o cálculo do IMC não estabelece a composição corporal, mas tem sido utilizada devido à facilidade de realização, objetividade da medida e a possibilidade de comparação com um padrão de referência relativamente simples. Portanto, assume fundamental importância tanto em estudos populacionais quanto na prática clínica (WHO, 1995).

3.3 Amostras Biológicas, Isolamento e Quantificação do DNA

As amostras de sangue periférico heparinizado foram obtidas dos pacientes obesos e eutróficos no Laboratório Núcleo. A coleta foi feita mediante punção venosa de 5mL de sangue periférico em EDTA no antebraço, seguindo-se os critérios, cuidados e procedimentos operacionais padronizados internacionalmente para a coleta de sangue venoso em crianças (WHO, 2011).

A dosagem lipídica de colesterol total, HDL, LDL e triglicérides foi realizada no Laboratório Núcleo, utilizando amostras de sangue venoso coletadas de ambos os grupos, respeitado o jejum de 12 horas. As reações foram processadas no equipamento ARCHITECT Clinical Chemistry Analyzer i1000SR® (Abbott diagnostics).

Para as análises alélicas e genóticas o DNA genômico foi purificado a partir de 300 µL do sangue total usando-se um kit comercial de extração de DNA (Easy® DNA Purification Kit, Invitrogen, EUA), de acordo com as instruções do fabricante. A concentração de DNA foi estimada em cada amostra mediante a quantificação do DNA no equipamento NanoVue®.

3.4 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

As reações de PCR seguiram os protocolos e a termociclagem propostos e otimizados por Mellati e colaboradores (2007). Segundo os autores, os genótipos da IL-10 poderiam ser obtidos mediante um método de amplificação por PCR em um sistema refratário à mutação (ARMS-PCR). Por este método é realizada separadamente uma PCR para cada um dos alelos, que contém nucleotídeos de adenina (A) ou uma guanina (G), respectivamente. ARMS-PCR difere de uma PCR convencional para determinação de alelos, pois não requer o uso de uma enzima de restrição para clivar o DNA amplificado. A amplificação de um alelo depende do uso do seu oligonucleotídeo iniciador específico, assim o alelo contendo A somente foi amplificado na reação que se utilizou o primer correspondente àquele alelo (MELLATI et al., 2007).

Tanto o primer sense (A ou G) e o primer antisense (genérico) amplificam a mesma região do promotor do gene da IL-10. O amplicom produzido corresponde a um fragmento de aproximadamente de 258 pares de bases (pb). Primers de controle interno foram utilizados para verificação de sucesso amplificação por PCR, correspondendo a um amplicom de 429 pb da sequência do gene do hormônio do crescimento humano.

Condições da PCR. As reações de amplificação foram preparadas para um volume final de reação de 50 μ L de solução contendo aproximadamente 100 ng de DNA, 16,1 μ L de água Milli-Q®, 3,5 μ L de tampão Gold STR 10X® (Promega Corporation, EUA), 1 μ L cloreto de magnésio a 50 mM, 0,4 μ L de Taq DNA polimerase (Promega Corporation, EUA) e 1 μ L de uma solução contendo os primers A sense/primer G sense, primer genérico, primer controle interno 1 e primer controle Interno 2. A sequência dos oligonucleotídeos iniciadores e as suas respectivas concentrações estão representadas no quadro 2.

Primer Genérico	5'- CAGTGCCAAGTGAATTTGG -3'	10 µM
Primer A sense	5'- ACTACTAAGGCTTCTTTGGGAA -3'	10 µM
Primer G sense	5'- CTACTAAGGCTTCTTTGGGAG -3'	10 µM
Primer controle interno 1	5'- GCCTTCCCAACCATTCCCTTA -3'	1 µM
Primer controle interno 2	5'- TCACGGATTTCTGTTGTGTTTC -3'	1 µM

Quadro 2. Seqüência dos oligonucleotídeos iniciadores e as concentrações usadas na reação de ARMS-PCR para a determinação do polimorfismo -1082G/A na região do promotor do gene da IL-10.

Condições de termociclagem: Para as reações de amplificação foi usado o termociclador DNA IQ5® (Biorad, EUA). O protocolo de termociclagem utilizado está descrito no quadro 3 (MELLATI et al., 2007).

Etapas	Quantidade de ciclos	Condições
Desnaturação Inicial	1	95°C por 1 min
Desnaturação		95°C por 15 seg
Anelamento	20	65°C por 50 seg
Extensão		72°C por 40 seg
Desnaturação		95°C por 20 seg
Anelamento	20	59°C por 20 seg
Extensão		72°C por 20 seg
Extensão Final	1	72° por 5 min

Quadro 3. Protocolo de termociclagem usado na reação de ARMS-PCR para a determinação do polimorfismo -1082G/A na região do promotor do gene da IL-10.

Fonte: Mellati e colaboradores, (2007).

3.5 Análise e Documentação dos Produtos de PCR

Os produtos de PCR foram avaliados submetendo-se o DNA a um campo elétrico constante de 10 V/cm em um gel de agarose a 1,5% em TBE. A visualização dos fragmentos amplificados de DNA foi possível mediante a coloração do gel em

solução de brometo de etídio 0,5 mg/mL. Como marcador de peso molecular/tamanho foi usado o DNA ladder 100 pb (Invitrogen, EUA). Um sistema de vídeo-documentação (VDS®, Amersham Bioscience, EUA) interligado a um microcomputador com um sistema de captura e análise de imagens (Imagemaster®, Amersham Bioscience, EUA) foi usado para o registro e análise dos fragmentos obtidos por PCR.

3.6 Determinação dos níveis séricos de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicérides (TG)

As dosagens bioquímicas foram realizadas conforme os procedimentos operacionais padronizados para estes tipos de análises e conduzidas na seção de patologia clínica do Laboratório Núcleo.

O quadro 4 mostra os valores de referência propostos para os lípides séricos na faixa etária de 2 a 19 anos de acordo com a I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e Adolescência (GIULIANO et al., 2005).

Lípides	Desejáveis (mg/dl)	Limítrofes (mg/dl)	Aumentados (mg/dl)
CT	< 150	150-169	≥ 170
LDL-C	< 100	100-129	≥ 130
HDL-C	≥ 45		
TG	< 100	100-129	≥ 130

Quadro 4. Valores de referência do perfil lipídico para indivíduos entre 2 e 19 anos de acordo com a I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na infância e adolescência (2005).

3.7 Análise Estatística

A caracterização dos dados sociodemográficos e do perfil lipídico entre o grupo de obesos e controles foi realizada por meio de tabelas de contingência utilizando o teste do Qui-quadrado (χ^2). O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi analisado, além da heterozigosidade esperada e observada utilizando o *software* “R”; pacote “*hardyweinberg*”.

A pressuposta da normalidade dos dados foi testada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Não sendo satisfeita essa hipótese para esse conjunto amostral foram aplicados testes estatísticos não paramétricos.

O teste do χ^2 foi utilizado para comparar as frequências genotípicas e alélicas associadas ao polimorfismo SNP-1082G/A do gene da IL-10, comparando-se entre os grupos obesos e controles e também com os resultados do perfil lipídico. A fim de comparar os valores do perfil lipídico (mg/dL) foi ainda aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do pacote estatístico SPSS (23,0), utilizando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e intervalo de confiança de 95%.

Nas análises foi verificado se a presença do polimorfismo SNP-1082G/A é mais prevalente no grupo obeso do que no grupo controle e se a presença desse polimorfismo está associada a alterações nos perfis bioquímicos.

Com o auxílio desse programa, o equilíbrio de Hardy-Weinberg foi analisado, além das heterozigosidades esperada e observada. Para essas análises, os 93 pacientes foram subdivididos em faixas etárias, pacientes entre 5 a 9 anos e pacientes entre 10 a 17 anos. Houve semelhança entre os dois grupos quanto à distribuição de sexo.

Como essa pesquisa se trata de um estudo caso-controle, as frequências genotípicas da IL-10, nos portadores de obesidade infantil, foram comparadas com as frequências genotípicas encontradas no grupo controle. Estes estudos são chamados de estudos retrospectivos, pois a partir da doença-dano se busca retrospectivamente fatores de exposição.

RESULTADOS

Um total de 93 crianças e adolescentes foram avaliados, sendo 48 (52%) obesos e 45 (48%) eutróficos. Os dois grupos foram semelhantes em relação à média de idade e quanto à distribuição por gênero (tabela 2).

Sexo	Genótipos							
	Casos n (%)				Controles n (%)			
	A/A	A/G	G/G	Total	A/A	A/G	G/G	Total
Masculino	5 (24)	13 (62)	3 (14)	21 (44)	4 (19)	13 (62)	4 (19)	21 (47)
Feminino	8 (20)	14 (56)	5 (24)	27 (56)	5 (21)	15 (62)	4 (17)	24 (53)
Total	13 (27)	27 (56)	8 (17)	48 (100)	9 (20)	28 (62)	8 (18)	45 (100)

Tabela 2. Distribuição percentual dos casos e controles, de acordo com o sexo, em relação aos genótipos analisados do SNP-1082 da interleucina-10.

Quanto ao perfil lipídico, aproximadamente 60% do grupo controle e do grupo obeso tinham níveis normais de colesterol total ($p > 0,05$), 11% dos indivíduos do grupo controle e 20% do grupo obeso tinham níveis elevados de colesterol LDL ($p > 0,05$). Cerca de 14% de ambos os grupos tinham triglicérides alterado e 70% dos indivíduos do grupo obeso e 37,8% do grupo controle tinham níveis baixos de colesterol HDL ($p < 0,05$).

A caracterização dos dados sociodemográficos (faixa etária e sexo) e dos resultados do perfil lipídico em relação aos dois grupos está representada na tabela 3. Através da tabela pode-se verificar que não houve diferenças em relação às faixas etárias analisadas e em relação ao gênero em ambos os grupos estudados.

De acordo com a faixa etária, os grupos controles e obesos foram subdivididos em 5 a 9 anos e 10 a 17 anos, baseado em outros trabalhos observados na literatura e com o objetivo de verificar diferença nos resultados nessas faixas etárias.

Sociodemográficos	Grupo n (%)		Total	p*
	Controle	Obesos		
Faixa etária				
5 a 9 anos	20 (44,4)	20 (41,7)	40 (43,0)	0,78
10 a 17 anos	25 (55,6)	28 (58,3)	53 (57,0)	
Sexo				
Feminino	24 (53,3)	27 (56,3)	51 (54,8)	0,77
Masculino	21 (46,7)	21 (43,8)	42 (45,2)	
Colesterol total				
Normal	26 (57,8)	28 (58,3)	54 (58,1)	0,95
Aumentado	19 (42,2)	20 (41,7)	39 (41,9)	
LDL-C				
Normal	40 (88,9)	38 (79,2)	78 (83,9)	0,20
Aumentado	5 (11,1)	10 (20,8)	15 (16,1)	
HDL-C				
Diminuído	17 (37,8)	34 (70,8)	51 (54,8)	0,001
Normal	28 (62,2)	14 (29,2)	42 (45,2)	
Triglicérides				
Normal	39 (86,7)	41 (85,4)	80 (86,0)	0,86
Aumentado	6 (13,3)	7 (14,6)	13 (14,0)	

*Qui-quadrado

Tabela 3. Caracterização dos dados sociodemográficos e do perfil lipídico dos grupos controle e obesos.

A análise comparativa das médias de CT, HDL-C, LDL-C e triglicérides entre os casos e controles demonstrou significativa diferença em relação aos níveis de HDL-C ($p < 0,001$). A tabela 4 representa as estatísticas descritivas do perfil lipídico dos grupos avaliados, de acordo com as médias analisadas e os respectivos desvios padrão. A fim de comparar os valores do perfil lipídico foi aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney.

Tabela 4. Estatísticas descritivas do colesterol total, HDL, LDL e triglicerídeos.

Perfil lipídico (mg/dl)	Controle (n = 45) Média ± DP	Obesos (n = 48) Média ± DP	p^*
Colesterol total	167.4 ± 25,3	168.2 ± 32,4	0,96
Triglicerídeos	79.5 ± 38,8	86,0 ± 42,6	0,48
HDL-C	49.6 ± 10,5	40.9 ± 7,4	<0,001
LDL-C	102.1 ± 23,8	110.4 ± 29,3	0,12

*Mann-Whitney

A figura 7 compara os resultados dos grupos controle e obesos em relação aos resultados do perfil lipídico.

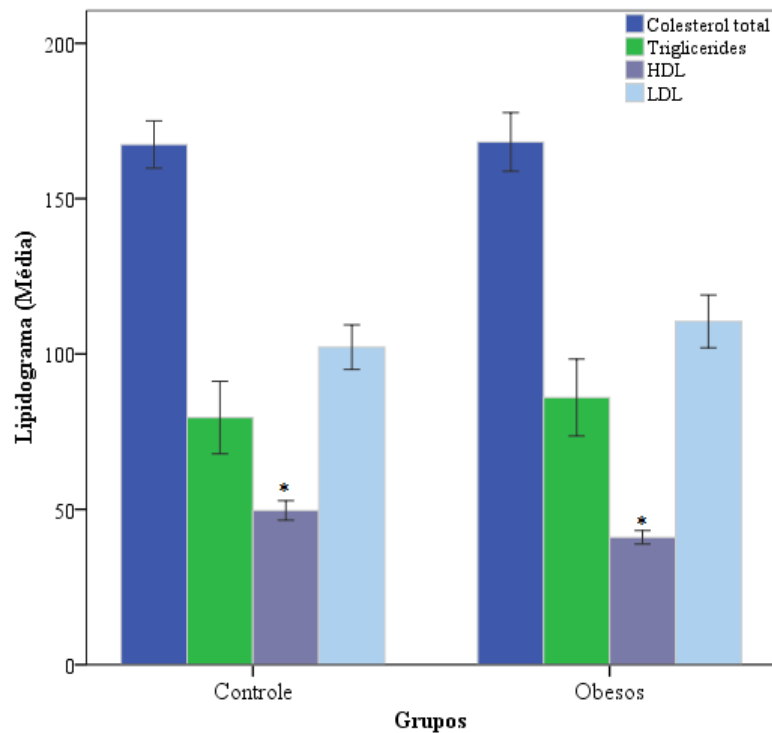


Figura 7. Gráfico de barras (IC-95%) comparando os valores médios dos resultados de perfil lipídico entre os grupos controle e obesos.

(*) $p < 0,05$

A visualização dos produtos da PCR foi feita através da coloração do gel em solução de brometo de etídio e um sistema de vídeo-documentação foi utilizado para

a análise e o registro dos fragmentos amplificados de DNA. A figura 8 representa a análise do polimorfismo SNP-1082 do gene da interleucina com os respectivos alelos A e G analisados, através de eletroforese em gel de agarose.

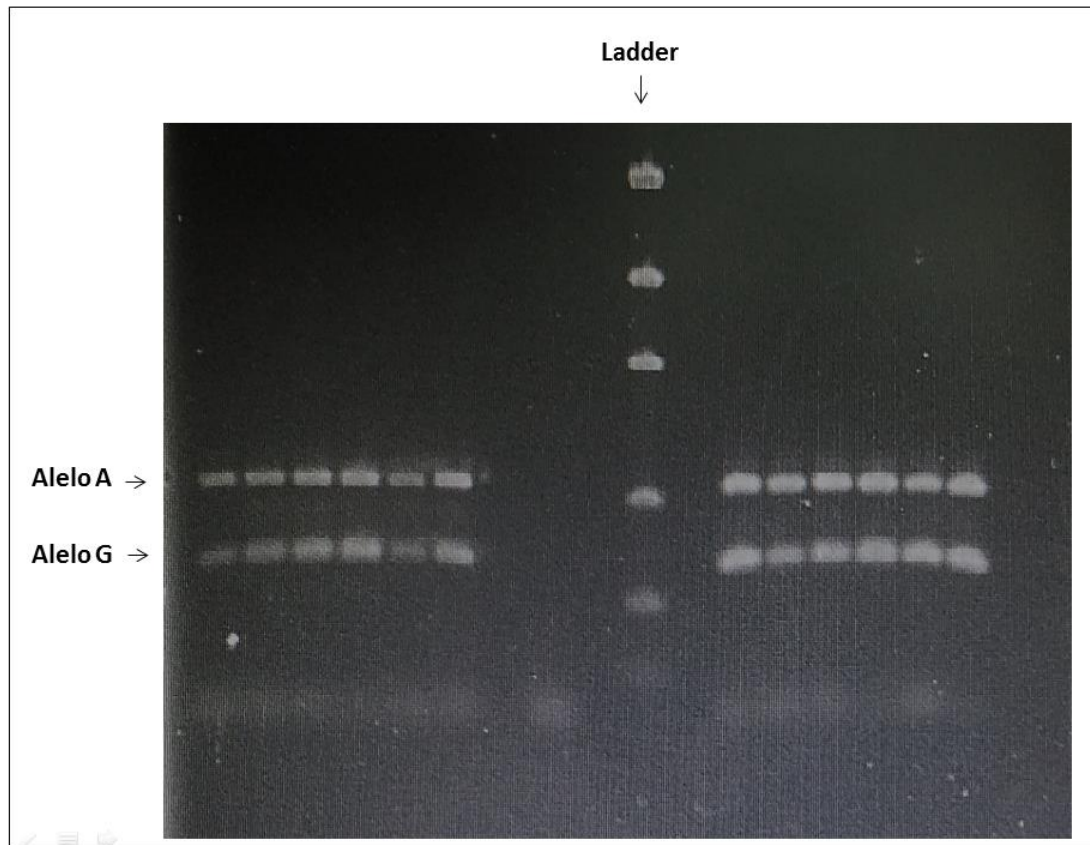


Figura 8. Perfil ARMS-PCR dos genótipos para SNP-1082 no gene da interleucina 10. A coluna “Ladder” corresponde ao marcador de peso molecular de 100pb. As outras canaletas correspondem aos alelos A e G. Os 12 pacientes representados na figura apresentaram genótipo heterozigoto (AG).

Após as análises moleculares do polimorfismo SNP-1082 G/A, os genótipos dos casos e controles foram classificados em A/A, A/G e G/G, em relação ao locus da IL-10. De acordo com a Tabela 2, 27 (56%) dos pacientes com obesidade apresentaram genótipo A/G, seguidos de 13 (27%) com genótipo A/A e apenas 8 (17%) com genótipo G/G. No grupo controle, 30 (64%) dos indivíduos apresentaram genótipo A/G, 9 (19%) apresentaram genótipo A/A e 8 (17%) apresentaram genótipo G/G. Em ambos os grupos houve maior prevalência de heterozigotos para o loco da IL-10.

O genótipo A/G apresentou maiores níveis de heterozigidade observada, quando comparado com os demais genótipos. As heterozigidades esperada e observada, de acordo com os genótipos, quanto ao equilíbrio de Hardy-Weinberg, no loco da IL-10, indicaram que os grupos se encontravam em equilíbrio ($p > 0,05$). As frequências genóticas dos grupos caso e controle foram comparadas pelo teste do χ^2 , não sendo detectadas diferenças significativas, quanto à distribuição dessas frequências (tabela 5).

Tabela 5. Resultado do teste do χ^2 testando o equilíbrio de Hardy-Weinberg.

Genótipo	Observado	Esperado	H_o	χ^2	p^*
A/A	23	26,3			
A/G	57	46,3	4,34	2,73	0,09
G/G	17	20,3			

H_o = Heterozigose observada

O genótipo A/A foi detectado em 20% dos indivíduos do grupo controle e 27% do grupo obeso, o genótipo A/G esteve presente em 62% dos indivíduos do grupo controle e 56% dos casos e o genótipo G/G apresentou menor prevalência, sendo observado em 8% em ambos os grupos ($p > 0,05$).

Tabela 6. Resultado da comparação das frequências genóticas entre os grupos de obesos com o controle.

Genótipo	Grupo n (%)		χ^2	p^*
	Controle	Obesos		
A/A	9 (20,0)	13 (27,1)		
A/G	28 (62,2)	27 (56,3)	0,64	0,72
G/G	8 (17,8)	8 (16,7)		

*Qui-quadrado

As frequências dos alelos A e G, também foram comparadas pelo teste do χ^2 (Tabela 7), entre os grupos caso e controle, não sendo detectadas diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,57$).

Tabela 7. Resultado da comparação das frequências alélicas entre os grupos de obesos com o controle.

Alelos	Grupo n (%)		χ^2	p^*
	Controle	Obesos		
A	46 (51,1)	53 (55,2)	0,31	0,57
G	44 (48,9)	43 (44,8)		

*Qui-quadrado

A tabela 8 representa o resultado do teste do Qui-quadrado entre os genótipos e os exames de lipidograma dos grupos obesos e controles. Os parâmetros do perfil lipídico não apresentaram diferenças significativas em relação aos genótipos analisados, demonstrando valores de $p > 0,05$.

Tabela 8. Resultado do teste do Qui-quadrado entre os genótipos e os exames de perfil lipídico do grupo.

Perfil Lipídico (mg/dl)	Genótipo n (%)			p^*
	A/A	A/G	G/G	
Colesterol total				
Normal	14 (63,6)	31 (56,4)	9 (56,3)	0,83
Aumentado	8 (36,4)	24 (43,6)	7 (43,8)	
LDL-C				
Normal	20 (90,9)	45 (81,8)	13 (81,3)	0,58
Aumentado	2 (9,1)	10 (18,2)	3 (18,8)	
HDL-C				
Diminuído	16 (72,7)	27 (49,1)	8 (50,0)	0,15
Normal	6 (27,3)	28 (50,9)	8 (50,0)	
Triglicérides				
Normal	17 (77,3)	51 (92,7)	12 (75,00)	0,07
Aumentado	5 (22,7)	4 (7,3)	4 (25,0)	

*Qui-quadrado

A figura 9 representa a distribuição da frequência genotípica entre os dois grupos, demonstrando que houve maior prevalência de heterozigotos A/G.

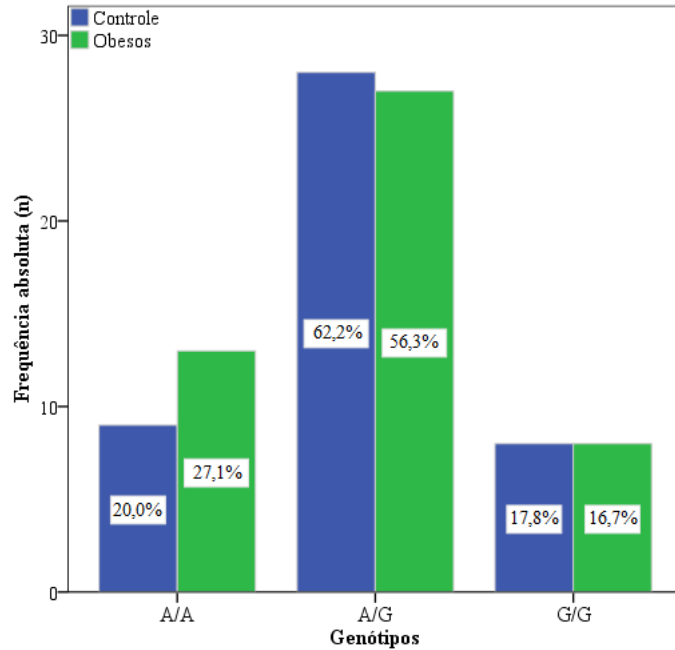


Figura 9. Distribuição das frequências dos genótipos nos grupos de obesos e controle.

A figura 10 ilustra as frequências alélicas nos dois grupos analisados, sendo que 51,1% dos alelos A estão presentes nos controles em relação à 55,2% nos obesos e 48,9% dos alelos G estão presentes nos controles em relação à 44,8% nos indivíduos obesos.

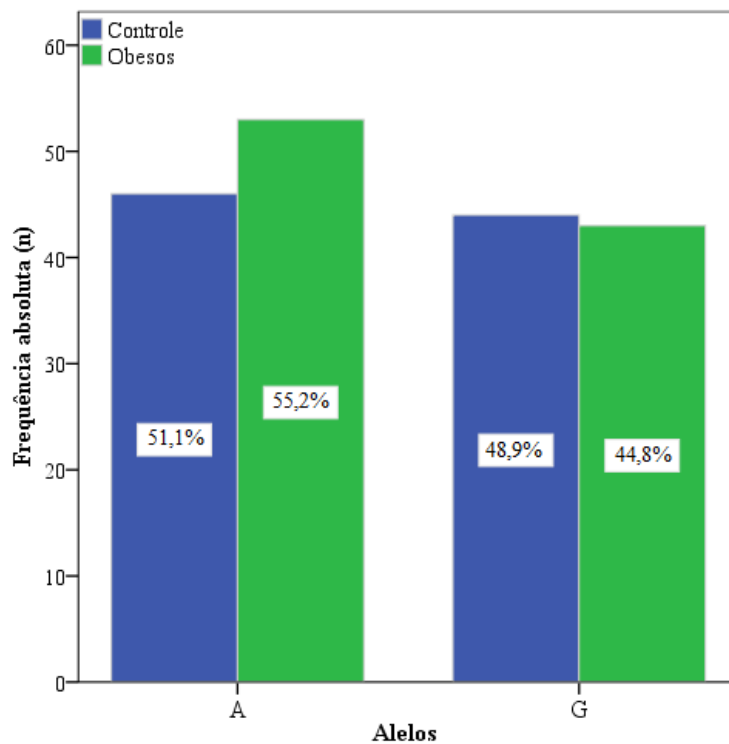


Figura 10. Distribuição das frequências alélicas nos grupos obesos e controles.

Finalmente a tabela 9 representa o resultado do teste do Qui-quadrado comparando as frequências alélicas com os exames de lipidograma dos grupos controle e obesos. Os parâmetros analisados, em relação aos alelos A e G e o perfil lipídico, também demonstraram que não houve diferenças significativas entre os resultados avaliados.

Tabela 9. Resultado do teste do Qui-quadrado comparando as frequências alélicas com os exames de lipidograma do grupo.

Perfil lipídico (mg/dl)	Alelos n (%)		<i>p</i> *
	A	G	
Colesterol total			
Aumentado	43 (43,4)	35 (40,2)	0,65
Normal	56 (56,6)	52 (59,8)	
LDL-C			
Aumentado	15 (15,2)	15 (17,2)	0,69
Normal	84 (84,8)	72 (82,8)	
HDL-C			
Normal	41 (41,4)	43 (49,4)	0,27
Diminuído	58 (58,6)	44 (50,6)	
Triglicérides			
Aumentado	15 (15,2)	11 (12,6)	0,62
Normal	84 (84,8)	76 (87,4)	

*Qui-quadrado

DISCUSSÃO

No presente estudo, optou-se por trabalhar o tema obesidade por ser um grave problema de saúde pública de proporções mundiais, sendo comprovadamente uma desordem influenciada por fatores genéticos e ambientais e responsável por significativa morbidade e mortalidade (POPKO et al., 2009; CERUTTI, 2013). Estudos de polimorfismos associados com a obesidade e outras patologias como a síndrome metabólica, têm sido realizados em crianças e adolescentes obesos nas diversas partes do mundo, demonstrando significativa correlação (CARVALHO FILHO et al., 2011; HSIEH et al., 2012; STOPPA-VAUCHER et al., 2012; TABASSUM et al., 2012; YU et al., 2012).

Neste contexto, foram incluídas no presente estudo 93 crianças e adolescentes, com faixa etária entre 5 e 16 anos, sendo 45 eutróficas e 48 obesas a fim de se avaliar essa possível alteração. O grupo amostral inicialmente era composto por 105 indivíduos, porém não foi possível realizar as análises genótípicas, alélicas e do perfil lipídico de todos os pacientes e então optou-se em utilizar somente os pacientes dos quais foram obtidas todas as dosagens, a fim de melhor estabelecer a relação com a obesidade.

A princípio o objetivo era estudar um maior número de polimorfismos genéticos em relação à obesidade, tais como o estudo genético das interleucinas IL-1 beta 2q14, IL-8 4q13q21 e IL-16 15q26.3, mas não foi possível devido à limitação de recursos. As análises puderam ser feitas, pesquisando-se o polimorfismo genético da interleucina 10, com a qual se tinham insumos suficientes para prosseguir com a pesquisa.

No presente estudo foram avaliados o perfil lipídico de crianças e controles. Foram evidenciados que os níveis séricos de colesterol total, colesterol LDL e triglicérides não apresentaram diferenças significativas entre os dois grupos analisados. Entretanto, foi verificada uma diferença importante entre os grupos baseado na determinação do colesterol HDL, onde os níveis séricos se mostraram menores no grupo dos indivíduos obesos em relação aos controles. A média dos

valores de HDL encontrada no grupo obeso foi de 40,9 (DP±7,4), em contrapartida no grupo controle a média encontrada foi de 49,6 (DP±10,5).

Esse resultado corrobora com outros achados na literatura que associam a obesidade a baixos níveis de HDL em adolescentes (ELMAOĞULLARI et al., 2015; HURIYATI et al., 2016) evidenciando que a obesidade está associada com riscos elevados de desenvolvimento da hipercolesterolemia (LIU et al., 2004; RAEDER et al., 2006; BOOTH et al., 2016). Foi relatado ainda aumento nos níveis séricos de LDL (LIU et al., 2004), o que não foi evidenciado em nosso estudo, o que pode ocorrer progressivamente baseado nos aspectos genéticos, alimentares e atividade física do grupo obeso e não obeso. Os dois grupos avaliados são acompanhados regularmente no consultório de endocrinologia do Hospital da Criança, o que poderia justificar a baixa ocorrência de valores alterados em relação ao perfil lipídico .

A obesidade em adolescentes tem sido associada com aumento de fatores de risco cardiovascular, tais como a dislipidemia e a resistência à insulina (HURIYATI et al., 2016), verificado pela relação entre o aumento de LDL e a diminuição dos níveis de colesterol HDL e está relacionado ao desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares, uma vez que o colesterol HDL é uma lipoproteína de alta densidade e confere proteção ao sistema cardiovascular (ELMAOĞULLARI et al., 2015).

A classificação fenotípica ou bioquímica das dislipidemias feita pela Diretriz Brasileira de Dislipidemias compreende quatro tipos principais bem definidos: hipercolesterolemia isolada, quando há elevação apenas do LDL; hipertrigliceridemia isolada, quando ocorre elevação isolada dos triglicérides; hiperlipidemia mista quando ocorrem valores aumentados de LDL e triglicérides e dislipidemia de HDL-C baixo: redução do HDL isolada ou em associação a aumento de LDL ou de TG (MOREIRA et al., 2013). De acordo com os resultados deste estudo, podemos sugerir, portanto, que a maior parte dos indivíduos obesos apresentaram uma dislipidemia isolada em relação ao colesterol HDL, na qual não há alteração dos demais parâmetros lipídicos.

Estudos de polimorfismos genéticos associados com a obesidade e a síndrome metabólica têm sido realizados em crianças e adolescentes obesos, com

significativa relação com a patologia (PRADO et al., 2009; CHANG; BAI; et al., 2014). A obesidade tem sido correlacionada a distúrbios metabólicos como dislipidemias, hipercolesterolemias e a outras doenças crônicas, tais como o diabetes, a hipertensão arterial e a aterosclerose (FOSTER-SCHUBERT; CUMMINGS, 2006; BOCHUKOVA et al., 2010).

A IL-10 é uma citocina que regula o sistema imune através de suas propriedades anti-inflamatórias, inibindo a expressão e síntese das citocinas pró-inflamatórias (CHOI et al., 2007). Tem sido demonstrado que indivíduos que apresentam obesidade possuem menores valores séricos de IL-10 quando comparados com indivíduos controles (PRADO et al., 2009; PINHEIRO VOLP et al., 2015; RODRIGUES et al., 2015).

A metodologia utilizada no presente estudo foi ARMS-PCR, que difere de uma PCR convencional para determinação de alelos porque não utiliza uma enzima de restrição para clivar o DNA.

Nas análises foi verificado que a presença do polimorfismo SNP-1082 G/A foi semelhante nos dois grupos, destacando-se a maior prevalência de heterozigotos para o loco da IL-10. Porém, a presença desse polimorfismo não se mostrou associada a alterações nos perfis bioquímicos. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as frequências alélicas e genótípicas e as dosagens de colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e triglicérides para os grupos obeso e controles. Através deste estudo não foi possível estabelecer uma relação direta entre a IL-10 e o metabolismo dos parâmetros lipídicos.

O polimorfismo de um único nucleotídeo no promotor do gene da IL-10, correspondendo à substituição de base de guanina por adenina na posição -1082 (SNP-1082G/A), tem sido associado à produção diferencial da IL-10 (STRACHAN, 2002; TRIFUNOVIĆ et al., 2015).

Após as análises moleculares, os genótipos dos grupos casos e controles foram classificados em A/A, A/G e G/G, quanto ao loco da IL-10. Em ambos os grupos, houve maior prevalência de heterozigotos para o loco da IL-10 (SNP - 1082G/A).

A avaliação do SNP 1082G/A, localizado no promotor do gene da IL-10, não apresentou diferenças significativas em crianças e adolescentes, comparando-se os grupos com obesidade e controles. O genótipo A/G apresentou maiores níveis de heterozigosidade observada, quando comparado com os demais genótipos. Quanto à distribuição das frequências genotípicas e dos alelos, comparadas entre os grupos caso e controle, não houve diferenças estatisticamente significativas. Não houve também diferenças importantes em relação ao gênero, sendo estatisticamente semelhantes.

As análises das frequências genotípicas e das frequências alélicas permitiram concluir que não houve relação significativa entre a presença do genótipo G ou A e o desenvolvimento da obesidade em crianças e adolescentes avaliados.

Os resultados desse estudo diferem de outros estudos que investigaram o papel deste SNP-1082G/A e de outras citocinas inflamatórias no desenvolvimento da obesidade (SCARPELLI et al., 2006; YIN et al., 2013; RODRIGUES et al., 2015), nos quais foi demonstrado que houve a diminuição dos níveis séricos da IL-10 em pacientes com obesidade e outras comorbidades associadas (ARSLAN et al., 2010; CHANG; LI; et al., 2014; SIPPEL et al., 2014; HAN et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015).

Entretanto dois estudos se contrapõe à maioria dos resultados obtidos na literatura por apresentar níveis séricos de IL-10 maiores em pacientes obesos em relação aos controles eutróficos (CALCATERRA et al., 2009; TAM et al., 2010). Elevados níveis de IL-10 podem indicar tentativas de inibir a inflamação regulando a secreção de citocinas pró-inflamatórias (WAAL MALEFYT, DE et al., 1991; NISSINEN et al., 2004).

Três polimorfismos -1082G/A, -819C/T, e -592C/A no promotor do gene da IL-10 foram relatados para influenciar a transcrição IL10 (SCARPELLI et al., 2006). No trabalho de Rodrigues e colaboradores, os genótipos de citocinas foram determinados por PCR e entre os polimorfismos da IL-10 analisados (-592C/A, -819T/C e -1082G/A) houve uma menor frequência do genótipo GG no polimorfismo SNP-1082 G/A em pacientes com obesidade e nefropatias diabéticas (RODRIGUES

et al., 2015). O presente trabalho também apresentou uma baixa frequência desse genótipo, porém os resultados foram semelhantes nos grupos obesos e controles.

Foram investigados os SNPs -592C/A, -819T/C e -1082G/A em pacientes com diabetes tipo 2. As citocinas pró-inflamatórias podem provocar resistência à insulina, sugerindo desequilíbrio entre as citocinas anti-inflamatórias na patogênese do diabetes tipo 2 e comorbidades associadas, tais como a obesidade (SCARPELLI et al., 2006). O estudo sugere que os polimorfismos e haplótipos do promotor da IL-10 podem estar associados com a obesidade e a resistência à insulina em caucasianos, porém o polimorfismo -1082 G/A não foi associado com diabetes tipo 2 (SCARPELLI et al., 2006).

O presente estudo teve algumas limitações. Não foi possível dosar os níveis séricos da IL-10 dos indivíduos envolvidos no estudo, pode ter ocorrido também algum desequilíbrio de ligação do polimorfismo do promotor de IL-10 com outras variantes codificadoras ou não codificadoras funcionais presentes na região promotora e não foi possível corrigir para testes múltiplos a análise de haplótipos, configurando resultados nominalmente significativos. Além disso, estabelece um grupo amostral relativamente limitado, sugerindo-se outros estudos populacionais prospectivos independentes para determinar se o polimorfismo do promotor do gene da IL-10 (SNP-1082 G/A) está correlacionado ao desenvolvimento da obesidade.

Estudos descreveram algumas associações entre polimorfismos da IL-10 e a obesidade associada ao diabetes. Um trabalho investigou a relação entre os três SNPs da IL-10 (-1082G/A, -819T/C, -592A/C) em associação com obesidade e diabetes tipo 2 em indivíduos chineses e concluíram que os SNPs -1082G/A e -592A/C aumentam o risco de diabetes tipo 2 e comorbidades associadas, como a obesidade (BAI et al., 2014).

Outro estudo realizou uma meta análise entre polimorfismos da interleucina 10 e encontrou resultados que associam o alelo G de IL-10-1082 com aumento do risco de obesidade e diabetes tipo 2 (YIN et al., 2013).

Na literatura ainda há poucos estudos correlacionando o SNP-1082G/A com a obesidade. A maioria dos estudos na literatura correlaciona o polimorfismo SNP-

1082A/G com obesidade, diabetes tipo 2, nefropatia diabética e outras comorbidades, tais como aterosclerose e isquemia cerebral (JIN et al., 2014; YU et al., 2015; ESPERANÇA et al., 2015; JIANG et al., 2015).

Diante desses resultados, sugere-se a realização de estudos adicionais para compreender melhor a associação de polimorfismos IL-10 com a predisposição à obesidade e aos processos inflamatórios subjacentes.

CONCLUSÃO

Apesar de relatos na literatura correlacionando a interleucina 10 à obesidade e à Síndrome Metabólica, no presente estudo não foram evidenciadas diferenças significativas entre o grupo de obesos e de controles em relação aos genótipos analisados, o que nos permite concluir:

- O SNP-1082G/A do gene da IL-10 não demonstrou relação com a obesidade;
- Com base nos resultados aqui apresentados, o polimorfismo genético do SNP-1082G/A não pode ser marcador diagnóstico da obesidade infanto juvenil;
- o HDL-C se mostrou como o único parâmetro com comportamento diferente entre os grupos controle e obesos, sendo um dos primeiros a se alterar em indivíduos obesos.

Sugerem-se outros estudos populacionais para determinar se o polimorfismo do promotor do gene da Interleucina 10 (SNP-1082 G/A) teria relação com o desenvolvimento da obesidade infanto juvenil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESO. Associação brasileira para estudo da obesidade. , 2012.

ANJOS, L. **OBESIDADE E SAÚDE PÚBLICA**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.

ARMINGOHAR, Z.; JØRGENSEN, J. J.; KRISTOFFERSEN, A. K.; SCHENCK, K.; DEMBIC, Z. Polymorphisms in the interleukin-10 gene and chronic periodontitis in patients with atherosclerotic and aortic aneurysmal vascular diseases. **Journal of oral microbiology**, v. 7, p. 26051, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25700628>>. .

ARSLAN, N.; ERDUR, B.; AYDIN, A. Hormones and cytokines in childhood obesity. **Indian pediatrics**, v. 47, n. 10, p. 829–39, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21048235>>. .

BAI, H.; JING, D.; GUO, A.; YIN, S. Association between interleukin 10 gene polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus in a Chinese population. **The Journal of international medical research**, v. 42, n. 3, p. 702–10, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24758873>>. .

BELL, C. G.; WALLEY, A. J.; FROGUEL, P. The genetics of human obesity. **Nature reviews. Genetics**, v. 6, n. 3, p. 221–234, 2005.

BOCHUKOVA, E.; HUANG, N.; KEOGH, J.; et al. Large, rare chromosomal deletions associated with severe earlyonset obesity. February 4; 463(7281): . doi:10.1038/nature08689. **Nature**, p. 666–670, 2010.

BOLGER, A.; SHARMA, R.; HAEHLING, S. VON; et al. Effect of interleukin-10 on the production of tumor necrosis factor alpha by peripheral blood mononuclear cells from patients with chronic heart failure. **Am J Cardiol**, v. 90, n. 4, p. 384–9, 2002.

BOOTH, H. P.; PREVOST, A. T.; GULLIFORD, M. C. Severity of obesity and management of hypertension, hypercholesterolaemia and smoking in primary care: population-based cohort study. **Journal of human hypertension**, v. 30, n. 1, p. 40–5, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25810065>>. .

CALCATERRA, V.; AMICI, M. DE; KLERSY, C.; et al. Adiponectin, IL-10 and metabolic syndrome in obese children and adolescents. **Acta Biomedica de l'Ateneo Parmense**, v. 80, n. 2, p. 117–123, 2009.

CARDINALI, D. P.; HARDELAND, R. Inflammaging, Metabolic Syndrome and Melatonin: A Call for Treatment Studies. **Neuroendocrinology**, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27165273>>. .

CARNEIRO, G.; FARIA, A. N.; RIBEIRO FILHO, F. F.; et al. [Influence of body fat distribution on the prevalence of arterial hypertension and other cardiovascular risk factors in obese patients]. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 49, n. 3, p. 306–11, 1992. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14666357>>. .

CARVALHO, A.; NETTO, J.; BUGLIANI, M.; et al. Emotional maturity, locus of control and anxiety in obese preadolescents. , v. vol 11 n°2, 2011.

CARVALHO FILHO, M.; DE, C.; ROPELLE, E.; JR, P. **Obesidade e diabetes: da origem ao caos. In: Obesidade e diabetes fisiopatologia e sinalização celular.** 2011.

CATANEO, C.; CARVALHO, A.; GALINDO, E. **Universidade de São Paulo. Obesidade e Aspectos Psicológicos: Maturidade Emocional, Auto-conceito, Locus de Controle e Ansiedade. Psicologia: Reflexão e Crítica, , 2005, 18(1), pp.39-46.** Ribeirão Preto, 2005.

CERUTTI, J. M. ET AL. Métodos de análise dos ácidos nucleicos: exames de DNA e RNA. In: Bruroni, D.; Perez, A. B. A.: Manole, 2013. **Guias de Medicina Ambulatorial e hospitalar da EPM_UNIFESP: Genética Médica**, 2013. Barueri, SP.

CHANG, J.-S.; BAI, C.-H.; HUANG, Z.-C.; et al. Interleukin 10 and clustering of metabolic syndrome components in pediatrics. **European journal of clinical investigation**, v. 44, n. 4, p. 384–94, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24467774>>. .

CHANG, J.-S.; CHANG, C.-C.; CHIEN, E. Y.; et al. Association between interleukin 1beta and interleukin 10 concentrations: a cross-sectional study in young adolescents in Taiwan. **BMC pediatrics**, v. 13, n. 1, p. 123, 2013. Disponível em: <<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3751513&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>. .

CHANG, J.-S.; LI, Y.-L.; LUA, C.-H.; et al. Interleukin-10 as a potential regulator of hepcidin homeostasis in overweight and obese children: A cross-sectional study in Taiwan. **Nutrition**, 2014. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899900714001269>>. .

CHAO, L.; LEI, H.; FEI, J. A meta-analysis of interleukin-10-1082 promoter genetic polymorphism associated with atherosclerotic risk. **Neurology India**, v. 62, n. 2, p. 130–6. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24823720>>. .

CHOI, K. M.; RYU, O. H.; LEE, K. W.; et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. **Diabetes research and clinical practice**, v. 75, n. 2, p. 235–40, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16872712>>. .

CRAWLEY, E.; KAY, R.; SILLIBOURNE, J.; et al. Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. **Arthritis Rheum**, , n. 42, p. 1101–1118, 1999.

DENYS, A.; UDALOVA, I.; SMITH, C.; et al. Evidence for a dual mechanism for IL-10

suppression of TNF- α production that does not involve inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase or NF κ B in primary human macrophages. **J Immunol**, v. 168, n. 10, p. 4837–45, 2002.

DONNELLY, R.; DICKENSHEETS, H.; FINBLOOM, D. The interleukin-10 signal transduction pathway and regulation of gene expression in mononuclear phagocytes. **J Interferon Cytokine Res**, , n. 19, p. 563–573, 1999.

ELMAOĞULLARI, S.; TEPE, D.; UÇAKTÜRK, S. A.; KARACA KARA, F.; DEMIREL, F. Prevalence of Dyslipidemia and Associated Factors in Obese Children and Adolescents. **Journal of clinical research in pediatric endocrinology**, v. 7, n. 3, p. 228–34, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26831558>>. .

ESPERANÇA, J. C. P.; MIRANDA, W. R. R.; NETTO, J. B.; et al. Polymorphisms in IL-10 and INF- γ genes are associated with early atherosclerosis in coronary but not in carotid arteries: A study of 122 autopsy cases of young adults. **BBA clinical**, v. 3, p. 214–20, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26674973>>. .

ESPOSITO, K.; POSTILLO, A.; GIUGLIANO, F.; et al. Association of low interleukin-10 levels with the metabolic syndrome in obese women. **J Clin Endocrinol Metab**, , n. 88, p. 1055–1058, 2003.

EXEL, E. VAN; GUSSEKLOO, J.; CRAEN, A. DE; et al. Low production capacity of interleukin-10 associates with the metabolic syndrome and type 2 diabetes: the Leiden 85-Plus Study. **Diabetes**, , n. 51, p. 1088–1092, 2002.

FERNÁNDEZ RP, K. J. Interleucina-10 y enfermedad coronaria. 55(7). **Rev Esp Cardiol**, p. 738–50, 2002.

FIORENTINO, D.; BOND, M.; MOSMANN, T. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. **J Exp Med**, , n. 170, p. 2081–95, 1989.

FONSECA-ALANIS, M.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M.; LIMA, F. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia**, v. 50, n. 2, p. 216–229, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302006000200008>>. .

FOSTER-SCHUBERT, K. E.; CUMMINGS, D. E. Emerging therapeutic strategies for obesity. **Endocrine reviews**, v. 27, n. 7, p. 779–93, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/er.2006-0041>>. .

FRANCISCHI, R.; PEREIRA, L.; FREITAS, C.; et al. OBESITY: UPDATED INFORMATION ABOUT ITS ETIOLOGY, MORBIDITY AND TREATMENT vol.13 no.1 Jan./Apr. **Rev. Nutr.**, v. 13, n. 1, p. 17–28, 2000. Campinas. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732000000100003>>. .

FRÜHBECK, G.; GÓMEZ-AMBROSI, J.; MURUZÁBAL, F. J.; BURRELL, M. A. The

adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, v. 280, n. 6, p. E827–47, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11350765>>. .

GALIC, S.; OAKHILL, J. S.; STEINBERG, G. R. Adipose tissue as an endocrine organ. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 316, n. 2, p. 129–39, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19723556>>. .

GAO, D.; MADI, M.; DING, C.; et al. Interleukin-1 β mediates macrophage-induced impairment of insulin signaling in human primary adipocytes. **American journal of physiology. Endocrinology and metabolism**, p. 289–304, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24918199>>. .

GIULIANO, I.; CARAMELLI, B.; PELLANDA, L.; et al. I Diretriz de Prevenção da Aterosclerose na Infância e na Adolescência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia suppl.6**, v. 85, 2005. São Paulo. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0066-782X2005002500001>>. .

GREENBERG, A.; OBIN, M. Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. **The American journal of clinical nutrition**, v. 83, n. 2, p. 461S–465S, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16470013>>. .

HAJJER, A.; LAZARUS, M.; TURNER, D.; et al. IL-10 gene promoter polymorphisms in rheumatoid arthritis. **Scand J Rheumatol**, v. 27, p. 142–5, 1998.

HAN, J. M.; PATTERSON, S. J.; SPECK, M.; EHSES, J. A.; LEVINGS, M. K. Insulin inhibits IL-10-mediated regulatory T cell function: implications for obesity. **Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)**, v. 192, n. 2, p. 623–9, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24323581>>. .

HAN, X.; KITAMOTO, S.; WANG, H.; BOISVERT, W. A. Interleukin-10 overexpression in macrophages suppresses atherosclerosis in hyperlipidemic mice. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 24, n. 8, p. 2869–80, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20354139>>. .

HSIEH, C.; HUNG, H.; WU, L.; et al. Interleukin-6 receptor gene 48892 A/C polymorphism is associated with metabolic syndrome in female taiwanese adolescents. *Genetic testing and molecular biomarkers.* , , n. 16, p. 1376–1381, 2012.

<http://www.abeso.org.br/pdf/diretrizes2010.pdf>. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/pdf/diretrizes2010.pdf>>. .

HURIYATI, E.; LUGLIO, H. F.; RATRIKANINGTYAS, P. D.; et al. Dyslipidemia, insulin resistance and dietary fat intake in obese and normal weight adolescents: the role of uncoupling protein 2 -866G/A gene polymorphism. **International journal of**

molecular epidemiology and genetics, v. 7, n. 1, p. 67–73, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27186330>>. .

HUTCHINSON, I. V.; PRAVICA, V.; HAJEER, A.; SINNOTT, P. J. Identification of high and low responders to allografts. **Reviews in immunogenetics**, v. 1, n. 3, p. 323–33, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11256423>>. .

JEBB, S. . **A etiology of obesity**. London, 1997.

JIANG, X.-H.; LIN, K.-X.; ZHANG, Y.-X.; CHEN, R.-H.; LIU, N. Correlating interleukin-10 promoter gene polymorphisms with human cerebral infarction onset. **Neural regeneration research**, v. 10, n. 11, p. 1809–13, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26807116>>. .

JIN, J.; LI, W.; PENG, L.; et al. Relationship between interleukin-10 -1082A/G polymorphism and risk of ischemic stroke: a meta-analysis. **PloS one**, v. 9, n. 4, p. e94631, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24732312>>. .

KANG, Y. E.; KIM, J. M.; JOUNG, K. H.; et al. The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. **PloS one**, v. 11, n. 4, p. e0154003, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27101398>>. .

KINANE, D.; HART, T. Gene and gene polymorphisms associated with periodontal disease. **Crit Rev Oral Biol Med**, v. 14, p. 430–49, 2003.

KITADA, M.; OGURA, Y.; SUZUKI, T.; et al. A very-low-protein diet ameliorates advanced diabetic nephropathy through autophagy induction by suppression of the mTORC1 pathway in Wistar fatty rats, an animal model of type 2 diabetes and obesity. **Diabetologia**, 2016. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27020449>>. .

KOSS, K.; SATSANGI, J.; FANNING, G. C.; WELSH, K. I.; JEWELL, D. P. Cytokine (TNF alpha, LT alpha and IL-10) polymorphisms in inflammatory bowel diseases and normal controls: differential effects on production and allele frequencies. **Genes and immunity**, v. 1, n. 3, p. 185–90, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11196710>>. .

LIU, L.; IKEDA, K.; CHEN, M.; et al. Obesity, emerging risk in China: trend of increasing prevalence of obesity and its association with hypertension and hypercholesterolaemia among the Chinese. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 31 Suppl 2, p. S8–10, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15649295>>. .

MALEFYT, R. **Interleukin-10**. In: Mire-Sluis A.; Thorpe R. (eds.). **Cytokines**. 2nd. Academic Press, 1999.

MAYNARD, C. L.; WEAVER, C. T. Diversity in the contribution of interleukin-10 to T-cell-mediated immune regulation. **Immunological reviews**, v. 226, p. 219–33, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19161427>>. .

MELLATI, E.; ARAB, H. R.; TAVAKKOL-AFSHARI, J.; EBADIAN, A. R.; RADVAR, M. Analysis of -1082 IL-10 gene polymorphism in Iranian patients with generalized aggressive periodontitis. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 13, n. 11, p. CR510–514, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17968299>>. .

MINNICELLI, C.; BARROS, M. H. M.; KLUMB, C. E.; et al. Relationship of Epstein-Barr virus and interleukin 10 promoter polymorphisms with the risk and clinical outcome of childhood Burkitt lymphoma. **PloS one**, v. 7, n. 9, p. e46005, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23029361>>. .

MOORE, K.; MALEFYT, R.; COFFMAN, R.; O’GARRA, A. Interleukin-10 and the interleukin10 receptor. **Annu Rev Immunol**, v. 19, p. 683–765, 2001.

MOREIRA, L.; BARRETO-FILHO, J.; EVORA, P.; LEMOS, P.; LOPES, A. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose -. **Revista da Sociedade Brasileira de Cardiologia**, v. 101, n. 4, p. 1–22, 2013. Disponível em: <www.arquivosonline.com.br>. .

MS. Ministério da saúde. Vigitel. **VIGITEL BRASIL 2014. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**, 2014.

MUST, A.; DALLAL, G.; DIETZ, W. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht²) and triceps skinfold thickness. **Am J Clin Nutr**, p. 53:839–46, 1991.

NIHISER, A. J.; LEE, S. M.; WECHSLER, H.; et al. Body mass index measurement in schools. **The Journal of school health**, v. 77, n. 10, p. 651–71; quiz 722–4, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18076411>>. .

NISSINEN, R.; LEIRISALO-REPO, M.; NIEMINEN, A. M.; et al. Immune activation in the small intestine in patients with rheumatoid arthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 63, n. 10, p. 1327–30, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15361394>>. .

NUSSBAUM, R. **Variação Genética em Indivíduos: Mutação e Polimorfismo**. In: _____. **Genética Médica: Thompson & Thompson**. 6. ed. Rio de Janeiro, 2002.

O’GARRA, A.; VIEIRA, P. T(H)1 cells control themselves by producing interleukin-10. **Nature reviews. Immunology**, v. 7, n. 6, p. 425–8, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17525751>>. .

OLLIER, W. E. R. Cytokine genes and disease susceptibility. **Cytokine**, v. 28, n. 4-5, p. 174–8, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15588692>>. .

ONIS, M. DE; ONYANGO, A. W.; BORGHI, E.; et al. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, n. 9, p. 660–7, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18026621>>. .

PENG, X.; XU, J.; WANG, P.; ZHOU, J.; GUO, H. Interleukin-10-1082A/G polymorphism and diabetic nephropathy: a meta-analysis. **Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research**, v. 21, p. 890–4, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25806430>>. .

PINHEIRO VOLP, A. C.; SANTOS SILVA, F. C.; BRESSAN, J. Hepatic inflammatory biomarkers and its link with obesity and chronic diseases. **Nutrición hospitalaria**, v. 31, n. 5, p. 1947–56, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25929362>>. .

PNAD. Pesquisa Nacional de Domicílios. , 2004.

POPKO, K.; GÓRSKA, E.; PYRZAK, B.; et al. Influence of proinflammatory cytokine gene polymorphism on childhood obesity. **European journal of medical research**, v. 14 Suppl 4, p. 59–62, 2009.

PRADO, W.; LOFRANO, M.; OYAMA, L.; DÂMASO, A. Obesidade e adipocinas inflamatórias: implicações práticas para a prescrição de exercício. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 15, n. 5, p. 378–383, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1517-86922009000600012>>. .

RAEDER, M. B.; BJELLAND, I.; EMIL VOLLSET, S.; STEEN, V. M. Obesity, dyslipidemia, and diabetes with selective serotonin reuptake inhibitors: the Hordaland Health Study. **The Journal of clinical psychiatry**, v. 67, n. 12, p. 1974–82, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17194277>>. .

RODRIGUES, K. F.; PIETRANI, N. T.; SANDRIM, V. C.; et al. Association of a Large Panel of Cytokine Gene Polymorphisms with Complications and Comorbidities in Type 2 Diabetes Patients. **Journal of diabetes research**, v. 2015, p. 605965, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26064986>>. .

SANDE-LEE, S. VAN DE; VELLOSO, L. A. [Hypothalamic dysfunction in obesity]. **Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia**, v. 56, n. 6, p. 341–50, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22990637>>. .

SCARPELLI, D.; CARDELLINI, M.; ANDREOZZI, F.; et al. Variants of the interleukin-10 promoter gene are associated with obesity and insulin resistance but not type 2 diabetes in caucasian italian subjects. **Diabetes**, v. 55, n. 5, p. 1529–33, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16644716>>. .

SCHOTTELIUS, A.; MAYO, M.; SARTOR, R.; BALDWIN, A. Interleukin-10 signaling blocks inhibitor of κ B kinase activity and nuclear factor κ B DNA binding. **J Biol**

Chem, , n. 274, p. 31868–31874, 1999.

SIPPEL, C.; BASTIAN, R.; GIOVANELLA, J.; et al. Processos inflamatórios da obesidade. **Revista de atenção à saúde**, v. v.12 nº42, p. 48–56, 2014.

STOPPA-VAUCHER, S.; DIRLEWANGER, M. A.; MEIER, C. A.; et al. Inflammatory and Prothrombotic States in Obese Children of European Descent. **Obesity**, 2012.

STRACHAN, T. Genética molecular humana. 2. ed. Porto Alegre. **Art Med**, 2002.

TABASSUM, R.; MAHENDRAN, Y.; DWIVEDI, O. P.; et al. Common variants of IL6, LEPR, and PBEF1 are associated with obesity in Indian children. **Diabetes**, v. 61, n. 3, p. 626–631, 2012.

TAM, C. S.; GARNETT, S. P.; COWELL, C. T.; et al. IL-6, IL-8 and IL-10 levels in healthy weight and overweight children. **Hormone research in paediatrics**, v. 73, n. 2, p. 128–134, 2010.

TOCK, L.; PRADO, W.; CARANTI, D.; et al. Nonalcoholic fatty liver disease decrease in obese adolescents after multidisciplinary therapy. Dec;18(12). **Eur J Gastroenterol Hepatol**, p. 1241–5, 2006.

TRIFUNOVIĆ, J.; MILLER, L.; DEBELJAK, Ž.; HORVAT, V. Pathologic patterns of interleukin 10 expression--a review. **Biochemia medica**, v. 25, n. 1, p. 36–48, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25672465>>. .

TURNER, D. M.; WILLIAMS, D. M.; SANKARAN, D.; et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. **European journal of immunogenetics : official journal of the British Society for Histocompatibility and Immunogenetics**, v. 24, n. 1, p. 1–8, 1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9043871>>. .

VELLOSO, L. A.; SCHWARTZ, M. W. Altered hypothalamic function in diet-induced obesity. **International journal of obesity (2005)**, v. 35, n. 12, p. 1455–65, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21386802>>. .

VIGITEL. Os Números da Obesidade no Brasil - Abeso. Disponível em: <www.abeso.org.br/uploads/downloads/17/552fe9fd73248.pdf>. .

VRIES, J. DE. Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin-10. **Ann Med**, , n. 27, p. 537–41, 1995.

WAAL MALEFYT, R. DE; ABRAMS, J.; BENNETT, B.; FIGDOR, C. G.; VRIES, J. E. DE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. **The Journal of experimental medicine**, v. 174, n. 5, p. 1209–20, 1991. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1940799>>. .

WHO. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of

anthropometry. : WHO. , 1995. Geneva.

WHO. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a World Health Organization Consultation. WHO Obesity Technical Report Series. **Anais...** . p.256, 2000. Geneva.

WHO. World Health Organisation. , 2007. Disponível em: <<http://benvenutri.blogspot.com.br/2013/07/obesidade-na-adolescencia.html>>. .

WHO. Diretrizes da OMS para tiragem de sangue: boas práticas em flebotomia. , 2011. Disponível em: <www.who.int/injection_safety/Phlebotomy-portuges_web.pdf>.

YIN, Y.-W.; HU, A.-M.; SUN, Q.-Q.; et al. Association between interleukin 10 gene -1082 A/G polymorphism and the risk of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of 4250 subjects. **Cytokine**, v. 62, n. 2, p. 226–31, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23541976>>. .

YU, G. I.; JUN, S.-E.; CHO, H.-C.; et al. Association of interleukin-10 promoter region polymorphisms with risk factors of Atherosclerosis. **International journal of immunogenetics**, v. 42, n. 1, p. 31–7, 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25421362>>. .

YU, Z.; HAN, S.; CAO, X.; et al. Genetic polymorphisms in adipokine genes and the risk of obesity: a systematic review and meta-analysis. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 20, n. 2, p. 396–406, 2012b. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21660081>>. .

APÊNDICES

APÊNDICE A - TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Informações

Convidamos a criança NOME, NACIONALIDADE, IDADE, neste ato representado por NOME, PARENTESCO, NACIONALIDADE, PROFISSÃO, RESIDÊNCIA, RG, a participar da Pesquisa Estudo de Associação Entre Polimorfismos Genéticos e Obesidade em Crianças, sob a responsabilidade da pesquisadora Renata Machado Pinto, cujo OBJETIVO é descobrir se existe maior risco de desenvolver obesidade na infância quando a pessoa possui alguns genes específicos.

A participação da criança é voluntária e se dará por meio de realização de consulta médica e fornecimento de amostra de sangue para análise em laboratório da presença ou ausência dos genes estudados. Esta amostra será colhida no laboratório Núcleo (Matriz) em momento de coleta habitual de exames de sangue requeridos para seu tratamento, sem punção venosa adicional. A METODOLOGIA da pesquisa é fazer uma análise da presença de genes no sangue das crianças e comparar a presença desses genes entre as crianças obesas e as magras e verificar se há diferenças.

Os riscos decorrentes da participação da criança na pesquisa são mínimos, próprios de qualquer coleta de sangue, que são dor no local e possível aparecimento de marcas roxas (equimoses). Caso ocorra qualquer intercorrência devido à coleta de sangue, os pacientes serão atendidos pela equipe médica que habitualmente está presente no Laboratório Núcleo e se a criança apresentar uma crise nervosa com dificuldade respiratória, aumento da pressão arterial, sudorese intensa, após ter sido assistida no próprio laboratório a criança será encaminhada imediatamente para o Serviço de Atendimento Médico (SAS/SESMT) da PUC Goiás.

A FINALIDADE de aceitar participar desta pesquisa é contribuir para um maior conhecimento dos mecanismos que causam a obesidade, possibilitando conhecer quais indivíduos tem maior risco de desenvolver a obesidade e que por isso necessitam de cuidados mais precoces e intensos.

Se depois de consentir com a participação da criança o Sr. (a) mudar de ideia, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa. Caso a criança decida não participar do estudo, mesmo que o Senhor (a) queira que ela participe, a vontade da criança será respeitada e ela não fará parte do estudo.

O (a) Sr (a) não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os gastos necessários para a participação da criança na pesquisa serão assumidos pelos pesquisadores. Fica também garantida indenização em casos de danos comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial (justiça comum).

Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas a identidade de eu filho não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Ressalta-se que todos os dados que permitam a identificação pessoal serão mantidos em sigilo profissional e científico. Sendo-lhe garantido que todos os resultados aqui obtidos serão utilizados somente para estudo científico e não irão prejudicar em algum tratamento que o participante já esteja submetido (a).

As amostras Biológicas e as fichas de avaliações serão armazenadas por 5 anos no Núcleo de Pesquisa Replicon da PUC-Goiás para eventuais correções de eventuais erros

nos resultados da pesquisa ou re-testes das amostras biológicas da mesma pesquisa se necessário.

É assegurada a assistência habitual da criança durante toda pesquisa. A dra. Renata Machado Pinto médica endócrino pediatra assistente da criança continuará a dar todo o suporte clínico durante o período da pesquisa. Em caso de qualquer intercorrência a criança será atendida no consultório da médica como ocorre habitualmente. É garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da participação de seu (sua) filho (a).

Para qualquer outra informação, o (a) Sr (a) poderá entrar em contato com a pesquisadora no endereço Rua 107 Qd F 32 Lt 37 Setor Sul no Centro Médico Hospital da Criança, pelo telefone (62) 3983 8015 ou 92637102.

Consentimento Pós-Informação

Eu, NOME, fui informado (a) sobre o que o pesquisador pretende fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em autorizar a participação de meu (minha) filho (a) no projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

LOCAL, DATA. Assinatura do participante

Assinatura do Pesquisador Responsável

APENDICE B - FICHA CLINICA PACIENTES

PRONTUÁRIO PESQUISA ASSOCIAÇÃO POLIMORFISMOS GENÉTICOS E OBESIDADE EM CRIANÇAS

Dra. Renata Machado Pinto - CRM 9070

DADOS DO PACIENTE

Nome: _____

Sexo: _____ Data nascimento: _____

Idade: _____

PRIMEIRO ATENDIMENTO:

ENTREVISTA COM PAIS/RESPONSÁVEIS

Data: _____ Informante: _____

Queixas:

Antecedentes mórbidos pessoais

Hábitos alimentares (quantidade / horários):

Leite: _____

Carne: _____

Fruta: _____

Verdura: _____

Guloseimas: _____

Atividade física (tipo / horas/semana):

CONDIÇÕES DE NASCIMENTO

PN: _____ CN: _____ PC: _____ IG: _____ Tipo

de parto: _____ Apgar: _____

G ___ P ___ A ___ Pré-natal: _____

HISTÓRIA FAMILIAR

Constituição familiar:

Antecedentes mórbidos (Diabetes mellitus, Hipertensão, Dislipidemia, Doença cardiovascular e outros citados pela família) :

Altura mãe: _____ Peso Mãe: _____ IMC: _____

Altura pai: _____ Peso Pai: _____ IMC: _____

Menarca da mãe: _____ Gonadarca pai: _____

EXAME CLÍNICO DA CRIANÇA

Peso: _____ Peso ideal _____ PA: _____

Altura: _____ IMC: _____ Z-IMC: _____

Ectoscopia: _____

Otoscopia: _____

ACV: _____

AR: _____

Abdome: _____

Membros: _____

SN: _____

Genitália: _____

DIAGNÓSTICOS:

Crescimento: _____

Desenvolvimento: _____

Alimentação: _____

Imunizações: _____

Patologia: _____

