



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

SIMONE RODRIGUES DA FONSECA

**HAPLÓTIPOS DA ADIPONECTINA E SUA ASSOCIAÇÃO COM
EXCESSO DE PESO E ALTERAÇÕES NA HOMEOSTASIA
GLICÊMICA EM ADOLESCENTES DA GRANDE VITÓRIA.**

VITÓRIA, ES

2018

SIMONE RODRIGUES DA FONSECA

**HAPLÓTIPOS DA ADIPONECTINA E SUA ASSOCIAÇÃO COM
EXCESSO DE PESO E ALTERAÇÕES NA HOMEOSTASIA
GLICÊMICA EM ADOLESCENTES DA GRANDE VITÓRIA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Flávia Imbroisi
Valle Errera

VITÓRIA, ES

2018

SIMONE RODRIGUES DA FONSECA

**HAPLÓTIPOS DA ADIPONECTINA E SUA ASSOCIAÇÃO COM
EXCESSO DE PESO E ALTERAÇÕES NA HOMEOSTASIA
GLICÊMICA EM ADOLESCENTES DA GRANDE VITÓRIA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Apresentada em 31 de agosto de 2018.

Profa. Dr^a. Flávia Imbroisi Valle Errera
UFES (Orientadora)

Profa. Dr^a. Flávia de Paula
RENORBIO/UFES (Titular)

Prof. Dr. Carlos Magno da Costa
Maranduba
UFJF (Titular)

Profa. Dr^a. Maria do Carmo Pimentel Bati
Tucci
UFES (Suplente)

VITÓRIA, ES

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

R696h Rodrigues da Fonseca, Simone, 1987-
Haplótipos da Adiponectina e sua associação com excesso de peso e alterações na homeostasia glicêmica em adolescentes da Grande Vitória. / Simone Rodrigues da Fonseca. - 2018.
72 f. : il.

Orientadora: Flávia Imbroisi Valle Errera.
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Polimorfismo Genético. 2. Obesidade. 3. Adolescentes. 4. Diabetes Mellitus. I. Imbroisi Valle Errera, Flávia. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

DEDICATÓRIA

Porque dEle e por Ele, e para Ele, são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente.

Romanos 11:36

AGRADECIMENTOS

Á Deus pelo infinito amor e pela oportunidade.

Aos meus pais, meus heróis, maiores exemplos de vida, pelo amor e companheirismo.

À orientadora Dr^a Flávia Imbroisi Valle Errera, um muito obrigado não só pela orientação, mas também pela confiança e dedicação, por ensinar, nas pequenas atitudes, noções que vão muito além da ciência.

Ao Professor Dr. Silvio Roberto Foletto por me incentivar e me liberar das atividades profissionais durante as atividades do programa do Mestrado. Aos colegas do Laboratório de Toxicologia da Central Sorológica de Vitória-CSV (Dr. Fabrício Pelição, João, Wilma e Abenilton) por suprirem as minhas ausências, por se interessarem e por apoiarem. Obrigada pessoal vocês são tops!

Aos colegas do Hospital Estadual Doutor Dório Silva, em especial ao Luciano, Bárbara, Pedro e Civanil, por apoiarem. Muito obrigada pessoal.

À Profa. Lúcia Pimassoni, pela ajuda imprescindível nas análises estatísticas e por toda a paciência e ensinamentos durante as análises. Muito obrigada.

A professora Dra. Lizânia Spinasse, do Núcleo de Doenças Infecciosas- NDI pela colaboração na reconstrução dos haplótipos, sua colaboração foi fundamental na elaboração deste trabalho. Obrigada.

Aos amigos, em especial ao Lucas Furtado Gramlich, por participarem e se interessarem, por torcerem e apoiarem, por inspirarem, diariamente ou eventualmente, pessoalmente ou virtualmente vocês tornaram o percurso menos sinuoso.

Às agências de apoio e financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e

Tecnológico, Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

EPÍGRAFE

“Propor novos questionamentos e possibilidades refletindo sobre velhos problemas sob um novo ângulo requer imaginação criativa e marca um real avanço na ciência” Albert Einstein (1879-1955)

RESUMO

FONSECA, S.R **Haplótipos da adiponectina e sua associação com excesso de peso e alterações na homeostasia glicêmica em adolescentes da Grande Vitória**. 2018. 77f. Dissertação Mestrado em Biotecnologia – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, UFES, Espírito Santo. Brasil.

A obesidade é uma doença crônica inflamatória caracterizada pelo excesso de gordura e vem aumentando de forma significativa entre crianças e adolescentes levando a várias complicações na infância e na idade adulta, como: hipertensão arterial sistêmica, intolerância diminuída à glicose, dislipidemia e diabetes tipo 2. Uma série de fatores contribui para a obesidade na infância e podem ser: genéticos, ambientais e comportamentais. Estudos têm investigado fatores genéticos que predis põem à obesidade, embora estes fatores ainda sejam pouco compreendidos. Os genes candidatos à predisposição à obesidade estão relacionados com a regulação da fome, balanço energético, metabolismo de lipídeos e glicose; e diferenciação de adipócitos. Neste contexto, o gene da adiponectina (*ADIPOQ*) que regula a sensibilidade à insulina, e está envolvido na resposta inflamatória e regulação do balanço energético, representam uma interessante oportunidade de identificar os determinantes genéticos primários envolvidos na susceptibilidade a obesidade e diabetes em crianças e adolescentes, uma vez que estas constituem um dos principais grupos-alvo para estratégias de pesquisa, prevenção e controle do sobrepeso e obesidade. O objetivo deste estudo foi analisar as frequências dos genótipos e/ou haplótipos para o verificar o polimorfismo no gene da *ADIPOQ* e sua associação com a susceptibilidade ao excesso de peso e alterações da homeostase glicêmica de adolescentes matriculados na rede estadual de ensino da Região Metropolitana da Grande Vitória-ES, provenientes de uma amostra representativa do estudo “Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis da síndrome metabólica” foram incluídos aleatoriamente no estudo genético. Para classificação do estado nutricional foi considerado o índice de massa corpórea/idade (IMC/I), em escore z. O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico. Para o gene *ADIPOQ*, o DNA foi amplificado por metodologia Taqman. Dados dos indivíduos relativos à raça, sexo, idade, IMC/I, glicemia, insulina e HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance) foram analisados no *software* SPSS versão 23.0. Foram investigados 350 adolescentes com idade variando de 10-14 anos, os quais foram divididos em dois grupos: com excesso de peso (n=109) e sem excesso de peso (n=241), sendo avaliados quatro SNPs no gene da *ADIPOQ* rs17300539 (-11391 G>A); rs 266729 (-11377C>G); rs2241766 (+45T>G) e rs1501299 (+276G>T). Para SNP (+45T>G) observamos associação dos genótipos com excesso de peso (p=0,04), e associação para HOMA β % (p=0,028). As associações dos haplótipos do gene *ADIPOQ* na região codificadora do gene da *ADIPOQ* +45T>G e +276G>T foram associados com o aumento nos níveis séricos da glicose. Concluímos, que

polimorfismo e/ou haplótipos TG no gene da ADIPOQ está relacionado com susceptibilidade ao excesso de peso e alterações na homeostase glicêmica adolescentes numa faixa etária entre 10 – 14 anos.

Palavra Chave: *ADIPOQ*, Polimorfismo, Adolescentes, Obesidade, Diabetes, IMC, Homeostase Glicêmica.

ABSTRACT

FONSECA,S.R **Haplotypes of adiponectin and its association with excess of weight and changes in glucious homeostasia in adolescents of the Metropolitan Area of Vitória.** 2018. 77f.Dissertation Master in Biotechnology - Postgraduation Biotechnological Programme, UFES, Espírito Santo. Brazil.

Obesity is a chronic inflammatory disease characterized by excess fat and has been increasing significantly among children and adolescents leading to various complications in childhood and adulthood, such as: systemic arterial hypertension, impaired glucose intolerance, dyslipidemia and type 2 diabetes. A number of factors contribute to childhood obesity and may be: genetic, environmental, and behavioral. Studies have investigated genetic factors predisposing to obesity, although these factors are still poorly understood. The genes that are candidates for predisposition to obesity are related to the regulation of hunger, energy balance, lipid metabolism and glucose; and differentiation of adipocytes. In this context, the adiponectin gene (ADIPOQ) that regulates insulin sensitivity, and is involved in the inflammatory response and regulation of energy balance, represents an interesting opportunity to identify the primary genetic determinants involved in the susceptibility to obesity and diabetes in children and adolescents, since these are one of the main target groups for strategies for research, prevention and control of overweight and obesity. The objective of this study was to analyze the frequencies of genotypes and / or haplotypes to verify the polymorphism in the ADIPOQ gene and its association with the susceptibility to excess weight and alterations of the glycemic homeostasis of adolescents enrolled in public schools in the Metropolitan Region of Vitória-ES, from a representative sample of the study "Prevalence of overweight and obesity in adolescents in the state of Espirito Santo and his association with some variables of the metabolic syndrome "were randomly included in the genetic study. For classification of nutritional status, the body mass index / age (BMI / I) index was considered in z score. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples. For the ADIPOQ gene, the DNA was amplified by Taqman methodology. Data from the individuals related to race, gender, age, BMI / I, glycemia, insulin and HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment-Insulin Resistance) were analyzed in SPSS software version 23.0. A total of 350 adolescents aged 10-14 years were investigated, divided into two groups: overweight (n = 109) and no overweight (n = 241), with fourth SNPs in the ADIPOQ gene rs17300539 (-11391 G); 266729 (-11377C); rs2241766 (45T> G) and rs1501299 (276G> T). For SNP (+ 45T> G), we observed association of genotypes with excess weight (p = 0.04), and association for HOMA $\beta\%$ (p = 0.028). Associations of the ADIPOQ gene haplotypes in the coding region of the ADIPOQ + 45T> G and + 276G> T gene were associated with increased serum glucose levels. We conclude that polymorphism and / or haplotypes

TG in the ADIPOQ gene is related to susceptibility to excess weight and changes in adolescent glycemic homeostasis in an age group between 10 - 14 years.

Keyword: ADIPOQ. ADIPOQ, Polymorphism, Adolescents, Obesity, Diabetes, BMI, Glycemic Homeostasis.

LISTA DE FIGURA

Figura 1: Evolução da frequência de obesidade no Brasil entre crianças e adolescentes.....	20
Figura 2: Processos que o adipócito pode sofrer que aumentam a massa do tecido adiposo, levando à obesidade.....	24
Figura 3: Locais no Genoma com evidências de influência no IMC, obesidade e fenótipos relacionados.....	28
Figura 4: Estrutura do gene da adiponectina humana.....	34
Figura 5: Multimerização de adiponectina. Mostrando as três principais formas de adiponectina encontrado em circulação e as principais vias de sinalização.....	35
Figura 6: Alterações fisiológicas e celulares em resposta a adiponectina em tecidos alvos.....	38
Figura 7: Mapa genômico do gene <i>ADIPOQ</i> com localização de polimorfismos.....	39
Figura 8: Haplótipos possíveis versus haplótipos prováveis para os SNPs - 113910 G>A , -11377C>G, +45T>G e +276G>T no gene da <i>ADIPOQ</i>	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Classificação do excesso de peso em adultos pelo IMC.....	18
Tabela 2: Classificação do excesso de peso em crianças e adolescentes pelo ZIMC.....	23
Tabela 3: Exemplos de adipocinas produzidas no tecido adiposo branco.....	25
Tabela 4: Características antropométricas, clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil.....	48
Tabela 5: Genótipos, frequências alélicas e modelos genéticos para os polimorfismos rs2241766 (45 T> G) e rs1501299 (276 G> T) em adolescentes de escolas públicas da região Metropolitana de Vitória, ES, Brasil.....	49
Tabela 6: Genótipos, frequências alélicas e modelos genéticos para os polimorfismos e rs 266729 (11377C>G) e rs17300539(113910 G>A) em adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.....	50
Tabela 7: Associação do polimorfismo rs2241766 (45 T> G) da ADIPOQ com características clínicas e bioquímicas de adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.....	51
Tabela 8: Associação do polimorfismo ADIPOQ rs1501299 (276 G> T) com características clínicas e bioquímicas de adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.....	52
Tabela 9: Associação do polimorfismo ADIPOQ rs 266729 (11377C> G) com características clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil.....	53
Tabela 10: Associação do polimorfismo da ADIPOQ rs17300539 (11391 G> A) com características clínicas e bioquímicas de adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.....	54
Tabela 11: Percentual de frequências encontradas para os haplótipos construídos com base nos SNPs - 113910 G>A, -11377C>G, +45T>G e +276G>T, em 350 adolescentes.....	55
Tabela 12: Características clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil, avaliados no diferentes haplótipos.....	56
Tabela 13: Características clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil, avaliados por haplótipos da região promotora e codificante do gene da ADIPOQ.	57

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Haplótipos do gene da AdipoQ para os SNPs - 113910 G>A, - 11377C>G, +45T>G e +276G>T +276G>T associados com os modelos de homeostasia HOMA-IR; HOMA $\beta\%$ e HOMA S%.....59

Gráfico 2: Haplótipos do gene da AdipoQ para os SNPs - 113910 G>A, - 11377C>G, +45T>G e +276G>T +276G>T associados com glicose e insulina sérica.....59

.Gráfico 3: Haplótipos do gene da AdipoQ na região codificadora SNPs +45T>G e +276G>T associados com glicose e insulina sérica.....60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABESO	Associação Brasileira para Estudo da Obesidade
Acrp30	Adipocyte complement related protein of 30kD
ADIPOQ	Adiponectin
C/EBP	<i>Enhancer Binding Proteins</i>
DT2	Diabetes tipo 2
GWAS	Genome Wide Association Study
HDL	Lipoproteínas de alta densidade (do inglês High density lipoprotein)
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance
HOMA-B%	Homeostasis Model Assessment- β -cell function
HOMA-S%	Homeostasis Model Assessment- Insulin Sensitivity
EHW	Hardy-Weinberg
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDF	International Diabetes Federation
IMC	Índice de massa corporal
Kg	Quilograma
Kg/m ²	Quilogramas dividido por metros elevado ao quadrado
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade (do inglês Low density lipoprotein)
m ²	Metros elevado ao quadrado
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Proteína C Reativa
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
PPARG	Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (<i>do inglês Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>)
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês Single nucleotide polymorphisms)
SUS	Sistema único de saúde
TAB	Tecido adiposo branco
VLDL	Lipoproteínas de muita baixa densidade (do inglês Very low density lipoprotein)
ZIMC	Índice de massa corporal em escore z
RMGV	Região Metropolitana da Grande Vitória – ES

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
1.1.OBESIDADE INFANTO JUVENIL.....	19
1.2.TECIDO ADIPOSEO.....	23
1.3.ASPECTOS GENETICOS DA OBESIDADE.....	26
1.4.DIABETES.....	29
1.4.1. Alteração na homeostase da glicemia.....	30
1.4.2. Aspectos genéticos do diabetes tipo 2.....	31
1.5.ADIPONECTINA.....	33
2. JUSTIFICATIVA.....	42
3. OBJETIVOS.....	43
4. MATERIAIS E METODOS.....	44
4.1.SUJEITOS E DADOS CLINICOS.....	44
4.2.ISOLAMENTO DE DNA E GENOTIPAGEM.....	45
4.3.RECOSTRUÇÃO DE HAPLÓTIPOS.....	46
4.4.ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	46
5. RESULTADOS.....	47
5.1.ANÁLISE DE ASSOCIAÇÕES COM HAPLÓTIPOS.....	55
5.1.1. Reconstrução dos haplótipos possíveis prováveis.....	56
6. DISCUSSÃO.....	62
7. CONCLUSÃO.....	65
8. REFERENCIAS.....	66
ANEXOS	72

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é um distúrbio metabólico caracterizado por um estado inflamatório crônico e acúmulo excessivo de gordura corporal, que apresenta um risco para a saúde e contribui para o desenvolvimento de outras patologias, como *diabetes mellitus* tipo 2, hipercolesterolemia, hipertensão arterial e doenças cardiovasculares. (PAES et al,2015).

A classificação da obesidade feita Organização Mundial da Saúde (OMS) de acordo com IMC conforme apresentado na (Tabela1) e baseia-se em padrões internacionais desenvolvidos para pessoas adultas descendentes de europeus.

Tabela 1 Classificação do excesso de peso em adultos pelo IMC.

Classificação	IMC (kg/m ²)	Risco de comorbidades
Baixo peso	<18,5	Baixo (mas com alto risco para outros problemas clínicos)
Variação Normal	18,5 - 24,90	Médio
Sobrepeso ou pré-obeso	25,0 - 29,90	Aumentado
Obesidade	30,0 - 34,99	Moderado
Obesidade	35,0 - 39,99	Alto
Obesidade grave	≥ 40,00	Muito Alto

Considera-se excesso de peso IMC ≥ 25,0 Kg/m² Fonte: OMS, 2016.

A etiologia da obesidade parece estar vinculada a inúmeros fatores, tais como polimorfismos gênicos, disfunções da sinalização de hormônios hipotalâmicos vinculados à saciedade, apetite e fome, aumento da liberação de adipocinas pró-inflamatórias pelo tecido adiposo branco e balanço energético positivo, no qual a alta ingestão calórica total, em especial o consumo elevado de alimentos energéticos, ricos em gorduras saturadas, açúcares e sal, ultrapassa a necessidade calórica diária (LEE et al, 2016; TAVARES et al, 2010; BASSANI, 2014).

1.1 OBESIDADE INFANTO JUVENIL

Em 1997, a Organização Mundial da Saúde (OMS) alarmou sobre a “epidemia mundial” da obesidade, logo após uma estimativa que apontava 18 milhões de crianças em todo o mundo, com menos de cinco anos com sobrepeso (GOMES et al,2006). Em 2011, mais de 40 milhões de crianças em todo o mundo já tinham excesso de peso antes dos 5 anos de idade; em 2016 o estudo Childhood Obesity Surveillance Initiative realizado entre 2015/2016 encontrou uma prevalência de 30,7% de excesso de peso (incluindo obesidade) e 11,7% de obesidade em crianças de 6-8 anos.

No Brasil, dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em parceria com o Ministério da Saúde (MS), apresentou um aumento importante no número de crianças acima do peso no país, principalmente na faixa etária entre 5 e 9 anos de idade. O número de meninos acima do peso mais que dobrou entre 1989 e 2009, passando de 15% para 34,8%, respectivamente. Já o número de obesos teve um aumento de mais de 300% nesse mesmo grupo etário, indo de 4,1% em 1989 para 16,6% em 2008-2009. O estudo também constatou em adolescentes de 10 a 19 anos, a incidência de excesso de peso aumentou seis vezes em um período de 34 anos, com cerca de 20% destes adolescentes em excesso de peso (Figura 1).

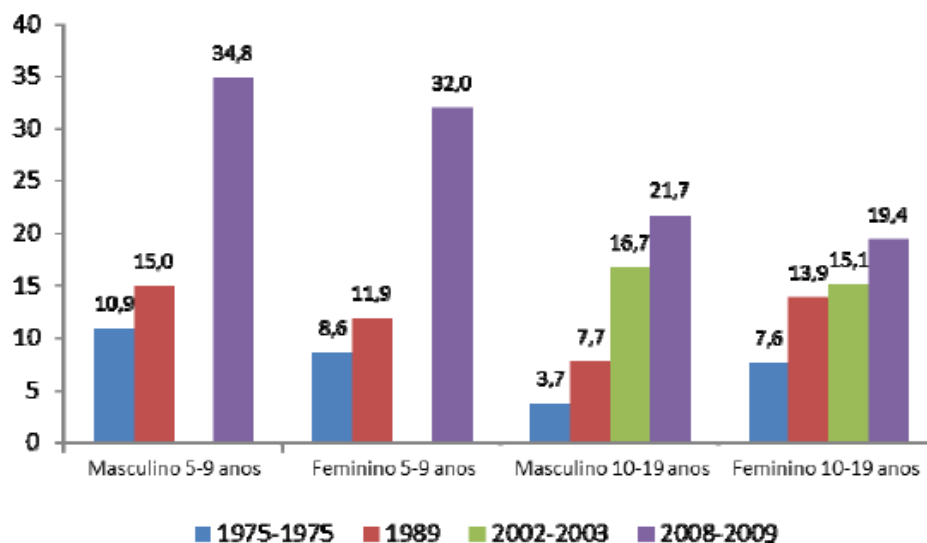


Figura 1: Evolução da frequência de obesidade no Brasil entre crianças e adolescentes.

Fonte: POF 2008-209-IBGE.

Estudos longitudinais têm demonstrado que principalmente o índice de massa corpórea (IMC), mas também concentrações séricas de insulina na infância predizem a presença de fatores metabólicos na idade adulta (Srinivasan SR¹, Myers L, Berenson GS; 2002). Além disso, as complicações metabólicas da obesidade já estão presentes no grupo pediátrico e a prevalência de diabetes mellitus do tipo 2 (DM2) também vêm aumentando, chegando a 7% em adolescentes americanos segundo SEARCH for Diabetes in Youth, (2011).

No Brasil, os estudos sobre DM2 em indivíduos jovens ainda são raros. Embora os registros do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) mostrem aumento importante da obesidade nos jovens brasileiros, não existem dados precisos sobre a prevalência ou sobre a incidência de DM2 nessa população segundo Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD-2017-2018).

As causas que explicam o fenômeno da obesidade infanto-juvenil encontram respaldadas em fatores agravantes que podem contribuir para a obesidade, como o desmame precoce, introdução de alimentos calóricos desde os primeiros anos de vida e o sedentarismo ligado a atividades como televisão, jogos eletrônicos e computadores (GOES et al, 2015; RIBEIRO, 2014; FRANCISCHI et al;2000; SBD,2018)

Todas as etapas da infância são importantes para o estudo da obesidade, porém, a adolescência representa um período crítico para o desenvolvimento do excesso de peso. Nesta etapa do crescimento, o indivíduo adquire aproximadamente 25% da sua estatura final e 50% da sua massa corporal (CAMPOS et al, 2007). Deve ser considerado também que o risco de um adolescente obeso manter-se assim até a idade adulta chega a aproximadamente a 80% (GIJO, CHUMLEA,1999). Os indivíduos nessa faixa etária já apresentam diversas complicações encontradas em adultos obesos, como resistência a insulina, níveis séricos elevados de VLDL, LDL, triglicerídeos, apolipoproteína B e diminuídos HDL colesterol e apolipoproteína A1 (DEEB et al, 2015)

Em relação à obesidade infanto-juvenil, muitas crianças e adolescentes obesos sofrem de problemas psicológicos significativos, incluindo ansiedade, depressão, hiperatividade, déficit de atenção, bem como distúrbios emocionais e alimentares (HOLM et al, 2014).

Estudos clínicos indicam que quase 50% das crianças que são obesas apresentam pré-hipertensão ou hipertensão grau I e II, outros 29% têm dislipidemia, 44% têm mais do que 5% de gordura no fígado, e 74% exibem mais do que 5% de gordura nos seus músculos, e 17% apresentam alterações no metabolismo da glicose (HOLM et al, 2014 ; HAGMAN et al,2014). Além disso, as crianças que são obesas

correm o risco de doenças cardiovasculares, endócrinas, ósseo-articulares, complicações que estão presente ou ainda não clinicamente aparente (HOLM et al, 2014).

Em 2007 a OMS estabeleceu um novo critério de IMC para classificação do estado nutricional, para utilização em crianças e adolescentes de 5 a 19 anos. Esse critério considera a idade e o estágio de maturação sexual no qual a criança e/ou adolescentes se encontra, devido ao crescimento e dimensão corporal diferenciados entre indivíduos desta faixa etária. Essas diferenças se devem principalmente aos aspectos da composição corporal e aos hormônios relacionados à maturação sexual (OMS,2016), e o estado nutricional da criança e adolescente passa então a ser calculado através do escore Z do IMC (ZIMC). O escore Z quantifica a distância do valor observado em relação à mediana dessa medida ou o valor que é considerado normal na população. Corresponde à diferença padronizada entre o valor aferido e a mediana da população de referência e é calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{Escore-Z} = \frac{(\text{valor observado}) - (\text{valor de mediana de referência})}{\text{Desvio-padrão da população de referência}}$$

Crianças com peso normal apresentam um ZIMC com valores entre ≥ -2 e $< +1$ e obesidade um ZIMC igual ou maior a $+2$ (Tabela 2).

Tabela 2: Classificação do excesso de peso em crianças e adolescentes pelo ZIMC.

Classificação	ZIMC
Magreza acentuada	< -3
Magreza	< -2
Peso normal	≥ -2 e < 1
Sobrepeso	$\geq +1$ e $< +2$
Obesidade	$\geq +2$
Obesidade grave	$\geq +3$

Fonte: ABESO, 2016

1.2 TECIDO ADIPOSEO

O tecido adiposo é um órgão metabolicamente ativo e essencial para o organismo. desempenhando funções fisiológicas importantes, que contribuem para a homeostasia corporal. Está cada vez mais sendo estudado, devido ao aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade no mundo e à descoberta de que o mesmo não atua somente como depósito de armazenamento de energia ou isolante térmico e mecânico, mas também como órgão endócrino fundamental para o controle da homeostase metabólica (DASÍLIO, 2013; LESNA et al, 2016).

Nos organismos, os lipídeos são armazenados em dois tipos de tecido adiposo: tecido adiposo branco (TAB), também denominado unilocular e tecido adiposo marrom (TAM), que também pode ser chamado de multilocular. O TAM é encontrado somente em mamíferos e na espécie humana está praticamente ausente em adultos, sendo encontrado principalmente no feto e no recém-nascido, mas sua presença diminui rapidamente após o nascimento (RÀFOLS, 2014)

O tecido adiposo é controlado pelo sistema nervoso autônomo através de seus componentes simpático e parassimpático. A inervação simpática relaciona-se principalmente com as ações catabólicas, tais como a lipólise mediada pelos receptores β -adrenérgico e dependente da atividade da enzima lipase hormônio-sensível. Por outro lado, o sistema nervoso parassimpático está envolvido na execução de efeitos anabólicos sobre os depósitos adiposos, como a captação de glicose e de ácidos graxos estimulado pela insulina (FONSECA-ALANIZ et al,2006).

A adipogênese, processo de origem e maturação do adipócito a partir de células tronco, parece ocorrer primeiramente na fase fetal e durante a infância. Por outro lado, estudos mais recentes mostram que os adipócitos possuem capacidade de hipertrofia determinada geneticamente e que a expansão do adipócito até seu volume crítico estimula o aumento do número destas células (hiperplasia ou adipogênese) (CASTRO, 2009).

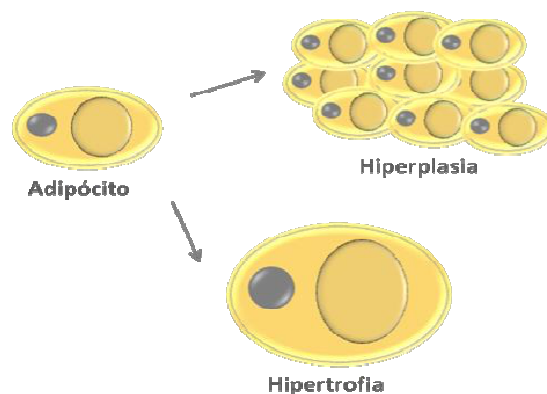


Figura 2: Processos que o adipócito pode sofrer que aumentam a massa do tecido adiposo, levando à obesidade. Fonte: FONSECA, 2014.

O TAB é um tecido considerado como órgão endócrino pois expressa e/ou secreta, uma variedade de peptídeos bioativos, conhecidos como adipocinas, os quais atuam

localmente de forma autócrina ou parácrina e também podem atuar a nível sistêmico (endócrino) (KERSHAW & FLIER, 2004; DASÍLIO, 2013). A Tabela 3 sumariza as principais adipocinas e suas funções, com destaque para a Adiponectina, que possui ação anti-inflamatória e resistência a insulina.

Tabela 3: Exemplos de adipocinas produzidas no tecido adiposo branco.

Símbolo Oficial	Nome	Funções principais
<i>LEP</i>	Leptina	Ingestão de alimentos
<i>ADIPOQ</i>	Adiponectina	Resistência a insulina, anti-inflamatório
<i>RETN</i>	Resistina	Resistência a insulina, inflamação
<i>NAMPT</i>	Visfatina	Resistência a insulina
<i>ITLN1</i>	Omentina	Resistência a insulina
<i>SERPINA12</i>	Serpina derivada do TA visceral	Resistência a insulina
<i>APLN</i>	Apelina	vasodilatação
<i>CETP</i>	Proteína de transferência de colesterol éster	Metabolismo de lipídeos
<i>LPL</i>	Lipase lipoprotéica	Metabolismo de lipídeos
<i>HSL</i>	Lipase hormônio-sensível	Metabolismo de lipídeos
<i>PLIN1</i>	Perilipina	Metabolismo de lipídeos
<i>RBP4</i>	Proteína ligante de retinol 4	Metabolismo de lipídeos
<i>ASP</i>	proteína ligante de acilação	Metabolismo de lipídeos
<i>ATII</i>	Angiotensina II	Pressão sanguínea, pró-inflamatório
<i>ACE</i>	Enzima conversora de angiotensina	Pressão sanguínea
<i>AGT</i>	Angiotensinogênio sanguíneo	Pressão sanguínea
<i>TNF-α</i>	Fator de necrose tumoral alfa	Inflamação
<i>IL-6</i>	Interleucina 6	Inflamação
<i>CRP</i>	Proteína C reativa	Inflamação
<i>Adipsina</i>	Fator D do complemento	Inflamação
<i>MCP-1</i>	Proteína quimiotática de monócitos 1	Atração de macrófagos
<i>ICAM-1</i>	Molécula de adesão intercelular 1	Atração de macrófagos
<i>PAI-1</i>	inibidor do ativador de plasminogênio 1	Fibrinólise

Fonte: Dasílio, 2013

1.3 ASPECTOS GENÉTICOS DA OBESIDADE

Vários genes envolvidos nos mecanismos de manutenção do peso, gasto energético, controle do apetite e acúmulo de gordura, metabolismo lipídico, de diferenciação de adipócitos são conservados no processo de evolução das espécies. Contudo, na maioria dos casos observados na população, a obesidade é multifatorial e SNPs em um conjunto genes candidatos são considerados fatores de risco genético (MARQUES-LOPES et al., 2004).

Na revisão feita por Rankinen et al. (2005), são citados 176 casos de obesidade humana não sindrômica causadas por mutação em um dos 11 genes já descobertos e 50 locus mapeados para síndromes monogênicas. Além disso, 244 genes que quando polimórficos ou expressos como transgenes em ratos, resultam em fenótipos que afetam o peso corporal e adiposidade. O número de estudos que relatam associações positivas em polimorfismos em genes específicos e obesidade tem crescido consideravelmente, com 426 achados positivos para 127 genes candidatos. Destes, 22 genes são replicados em pelo menos cinco estudos. O cromossomo Y é o único para qual ainda não foram identificados genes para a obesidade.

A hipótese mais aceita atualmente para as formas mais comuns de obesidade é a de que múltiplos alelos comuns interagindo entre si; conferindo a certos indivíduos um susceptibilidade resultante da interação destes fatores genéticos de forma bem complexa, tornando difícil a individualização destes genes em estudos populacionais. Além disso, é aceito que estes múltiplos alelos sejam bem representados nas populações humanas (COUTINHO,2010;MOSCA et al, 2012).

Estudos desses genes em subgrupos específicos de pacientes, com fenótipo bem definido e nas diferentes populações, podem esclarecer o verdadeiro significado desses genes e de seus polimorfismos na gênese da predisposição genética à obesidade e na resposta ao tratamento farmacológico e cirúrgico.

A identificação de genes envolvidos na obesidade multifatorial baseia-se em diferentes estratégias de estudo. Várias abordagens, incluindo a estratégia do Gene Candidato e Estudos de associação genômica (GWAS), têm sido frequentemente utilizadas na procura por genes associados à obesidade. Atualmente existem mais de 120 genes candidatos, sendo estes envolvidos no IMC, na gordura corporal, na distribuição da gordura no corpo, regulação do gasto energético, controle do apetite, metabolismo dos lipídeos e da glicose (LEE et al., 2016). A Figura 3 sumariza alguns genes associados com medidas antropométricas relacionadas à obesidade comum e seus respectivos locos.

Dentre estes, podem ser citados os que codificam o receptor β -adrenérgico, *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR-g), a Interleucina-6 (IL-6), o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), e a adiponectina, foco do presente estudo.

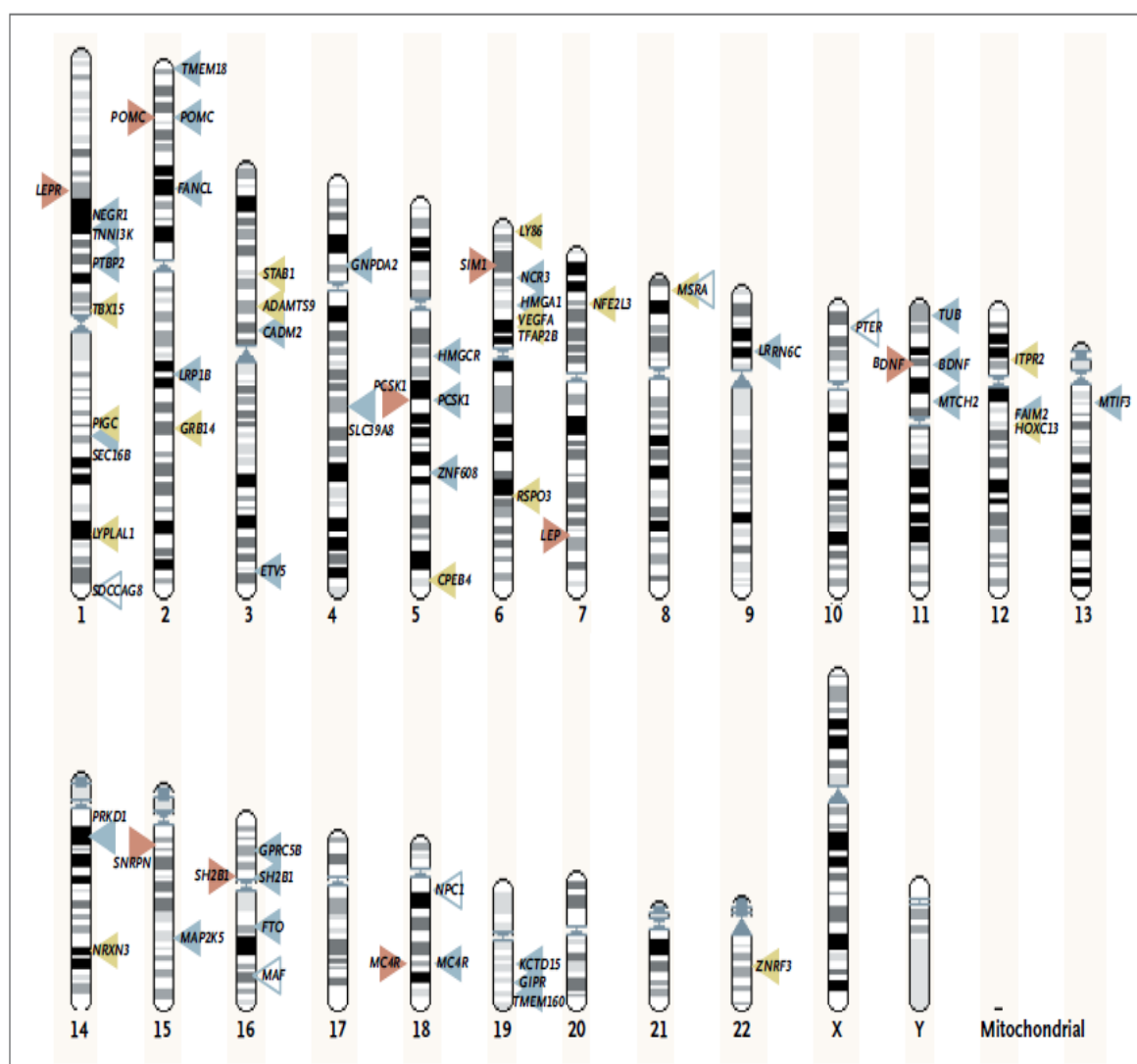


Figura 3 - Locais no Genoma com evidências de influência no IMC, obesidade e fenótipos relacionados. Os sinais são mostrados de acordo com sua sinalização em cada cromossomo. Genes que causam obesidade sintomática (triângulos vermelhos), variantes que possuem significativa associação no genoma com IMC ou obesidade multifatorial (triângulos sólidos azuis), análises de obesidade extrema (triângulos abertos azuis) e as variantes identificadas principalmente por causa de sua associação com a cintura ou circunferência cintura-quadril (sólidos triângulos verdes). Fonte: MARK e MCCARTHY (2010).

1.4 DIABETES

Diabetes mellitus (DM) é um importante e crescente problema de saúde para todos os países, independentemente do seu grau de desenvolvimento. Em 2015, a Federação Internacional de Diabetes (International Diabetes Federation, IDF) estimou que 8,8% da população mundial com 20 a 79 anos de idade (415 milhões de pessoas) vivia com diabetes. Se as tendências atuais persistirem, o número de pessoas com diabetes foi projetado para ser superior a 642 milhões em 2040. Cerca de 75% dos casos são de países em desenvolvimento, nos quais deverá ocorrer o maior aumento dos casos de diabetes nas próximas décadas. (SBD,2017- 2018).

A SBD define o diabetes mellitus (DM) em um distúrbio metabólico caracterizado por hiperglicemia persistente, decorrente de deficiência na produção de insulina ou na sua ação, ou em ambos os mecanismos, ocasionando complicações em longo prazo (SBD,2017-2018).

O aumento da incidência de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) entre crianças e adolescentes vem sendo observado em várias regiões do mundo, mas ainda não são bem conhecidos os motivos da eclosão da doença nessa faixa etária (PINHAS_HAMEL et al,2015)

A classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e pela Associação Americana de Diabetes (ADA), inclui quatro classes clínicas: D tipo 1 (DT1), D tipo 2 (DT2), outros tipos específicos de Diabetes e Diabetes gestacional. Ainda há duas categorias, referidas como pré-diabetes, que são a glicemia de jejum alterada e a tolerância à glicose diminuída. Essas categorias não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de -Diabetes e doenças cardiovasculares (DCVs) (SBD, 2017-2018).

1.4.1 Alterações na homeostase da glicemia

Assim como em adultos, o DM2 em jovens caracteriza-se por falência das células β , resistência hepática à insulina e na função da célula β , com aumento da produção hepática de glicose, da filtração renal e da lipólise. Há evidências de uma exagerada insensibilidade à insulina e de uma rápida deterioração da função das células β em adolescentes com DM2. Os jovens têm insensibilidade insulínica severa, com maior perda da capacidade de estímulo de secreção de insulina pela glicose e consequente declínio da função da célula β , duas a quatro vezes mais rápida que a descrita em adultos. Estima-se que a função da célula β caia de 20 a 30% ao ano, enquanto ocorre, paralelamente, mudança na sensibilidade à insulina.

Uma das complicações mais preocupantes da obesidade são as alterações da homeostase glicêmica, como a resistência insulínica (RI) considerada precursora da síndrome metabólica (SM), diabetes tipo 2 (DM2) e doenças cardiovasculares (ROMUALDO et al, 2014). Devido ao aumento da demanda de insulina, ocasionada pela resistência periférica a esse hormônio, as ilhotas pancreáticas aumentam a massa de células β pancreáticas, bem como sua capacidade secretora (CHANG-CHEN et al. 2008). Em longo prazo, em alguns indivíduos, essa adaptação pode não ser preservada, devido a uma falha da capacidade das células β secretoras (KAHN, 1998). As principais anormalidades nas ilhotas do pâncreas, que ocasionam o T2DM, são a redução da massa de células β e o funcionamento ineficaz dessas células (FLOREZ, 2006; VOIGHT et al., 2010). Assim, a resistência à insulina, juntamente com a insuficiência das células β pancreáticas em secretar insulina, são eventos iniciais da fisiopatologia do T2DM, que é caracterizado por níveis crônicos de hiperglicemia (LEAHY et al. 2010).

Na faixa etária infanto-juvenil, a obesidade parece ser importante gatilho de resistência insulínica (TEM & MACLAREN, 2004), que torna as crianças obesas um grupo de risco, levando os pesquisadores a buscarem indicadores clínicos e laboratoriais neste grupo. Na prática clínica, o homeostais model assessment for

insulin resistance (HOMA-IR) é usado para diagnosticar a resistência insulínica; homeostais model assessment- β cell function (HOMA- $\beta\%$) é usado pra verificar a função das células β do pâncreas e o homeostais model assessment S% para verificar a sensibilidade. (HOMA S%).

1.4.2 – Aspectos genéticos do diabetes tipo 2

A etiologia do DT2 é multifatorial, e o excesso de peso representa um dos principais fatores de risco. Contudo, cerca de 10% dos portadores de DT2 possuem peso normal e, por outro lado, muitos dos indivíduos obesos nunca desenvolverão diabetes, indicando que outros fatores são importantes, incluindo os fatores genéticos (YAKO et al, 2016; STAIGER et al, 2009).

A identificação e a caracterização de variantes genéticas que predisõem ao DT2 são fundamentais para o completo entendimento da doença. A importância da hereditariedade no DT2 está apoiada em diversos fatos, entre os quais: a) concordância entre gêmeos monozigóticos para o DT2, comparados aos dizigóticos. Estes estudos sugerem uma herdabilidade considerável, em torno de 50% - 80%, evidenciando que fatores genéticos tem papel importante na suscetibilidade à doença. b) Filhos de um dos pais com DT2 apresentam um risco de mais de 40% de desenvolvimento da doença, quando comparados a população geral (YAKO et al, 2016; COSTA, 2014).

As formas monogênicas de DT2 representam entre 5 a 10% dos casos de diabetes (REIS & VELHO, 2002). Uma mutação em um só gene transmitido de forma autossômica-dominante é suficiente para promover a hiperglicemia (FROGUEL & VELHO, 1994; FROGUEL et al, 1997). O início da doença é frequentemente precoce com forte penetrância. Exemplos de formas monogênicas de diabetes são representados pelo Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY), por mutações no gene do receptor da insulina e no gene da insulina (síndromes raras), pelo diabetes

de origem mitocondrial (REIS & VELHO, 2002; KHODAEIAN et al, 2015)

No momento atual conhecemos alguns genes causadores das formas monogênicas de DT2. No entanto, na grande maioria dos casos de DT2, a hiperglicemia é secundária a defeitos em um grande grupo de genes (formas poligênicas), sem que conheçamos ainda quantos e quais os genes envolvidos.

Os poligenes do DT2 são expressos em tecidos como fígado, adipócitos, células β -pancreáticas, musculatura esquelética entre outros. Estes genes desfavoráveis transmitidos de forma não mendeliana, atuam em fenótipos intermediários do diabetes que irão influenciar na homeostase glicídica, como na massa gordurosa, sensibilidade à insulina e padrão secretório da insulina (REIS & VELHO, 2002).

Nestas formas mais comuns de DT2 cada um dos poligenes “menores” gera individualmente um efeito muito limitado para o risco do desenvolvimento da doença. Porém, quando transmitidos simultaneamente a um mesmo indivíduo, estes defeitos genéticos potencialmente deletérios serão expressos clinicamente se houver a presença dos fatores ambientais desfavoráveis. Postula-se também que junto com os poligenes “menores”, possa haver alguns genes defeituosos com efeito fenotípico mais acentuado (“genes maiores”) (REIS & VELHO, 2002; LOWE, 2001).

A grande maioria dos alelos de risco relacionados com DT2 foram identificados através de estudos de associação por varreduras genômicas (GWAS) (YAKO et al, 2016). Os estudos de GWAS são o principal método para se estabelecer a ligação entre genótipo e fenótipo, sendo útil na identificação de variações genéticas familiares, descobrindo variantes genéticas de múltiplos genes com efeitos individualmente pequenos (BILLINGS et al, 2010). Os GWAS de doenças complexas como DT2, apresentam uma heterogeneidade genética complexa e ainda existe uma parcela grande de herdabilidade genética inexplicável (BILLINGS et al, 2010). A descoberta de inúmeras variantes genéticas importantes para o DT2 revelou vários reguladores chave envolvidos na homeostase da glicose e na secreção de insulina nos seres humanos (LONG et al, 2012).

Polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) com troca de um par de base, respondem por cerca de 90% da variação na sequência do genoma humano sendo consideradas como um dos principais determinantes da predisposição individual a doenças complexas (STAIGER et al, 2009). Entretanto, inserções, deleções, duplicações, inversões ou variações de números de cópia de segmentos do DNA (devido à deleção e/ou duplicação de segmentos de DNA) podem, também, desempenhar importante papel no risco genético de DT2. Estas variações em vários loci genéticos conferem uma maior susceptibilidade à doença seja diretamente seja por meio da interação com fatores ambientais (FERREIRA, 2013).

Encontrar genes que predispõem às formas multifatoriais de DT2 representa um desafio. A partir de 2007, estudos de associação genômica ampla fornecem novos *insights* sobre a arquitetura genética e biologia do DT2 e alterações da homeostase glicêmica, bem como entre os genes candidatos para susceptibilidade genética ao DT2 e excesso de peso, como a *ADIPOQ*.

1.5 ADIPONECTINA

A adiponectina (GBP-28, apM1, AdipoQ e Acrp30) (SCHERER et al., 1995) é uma adipocina de função metabólica, expressa no tecido adiposo, e encontrada no plasma em concentrações que variam de 2 a 20 µg/ml (ADYA et al., 2015). O gene humano que codifica a adiponectina localiza-se no cromossoma 3q27 do gene apM1 e possui três éxons e dois íntrons, conforme figura 4 . Este locus foi recentemente associado à susceptibilidade para a diabetes tipo 2, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (KISSEBAH et al., 2000).

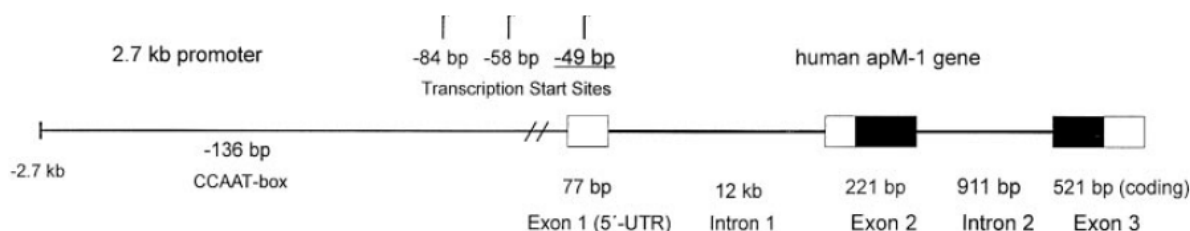


Figura 4: Estrutura do gene da adiponectina humana. Fonte: TAKAHASHI, et al, 2000

A proteína é constituída por 244 aminoácidos e composta por quatro domínios: uma sequência sinalizadora na região N-terminal, uma região variável com 27 aminoácidos, um domínio tipo colágeno e um domínio globular na região C-terminal. A adiponectina possui uma estrutura homóloga do colágeno VIII e X, fator do complemento C1q e do fator de necrose tumoral α (TSAO et al., 2002).

A proteína possui diferentes isoformas, sendo descrito na literatura as isoformas oligoméricas, incluindo as formas em trímeros, hexâmeros e complexas de alto peso molecular. Cada forma oligomérica da adiponectina apresenta propriedades biológicas distintas e ativam diferentes vias de sinalização celular em diversos tecidos (WANG et al., 2009).

Em 2003, foram identificados dois receptores da adiponectina, denominados AdipoR1 e AdipoR2, a partir desse fato, as vias de ação intracelular dessa adipocina começaram a ser elucidadas. Esses dois tipos de receptores, da grande família da proteína G são encontradas no músculo esquelético, fígado e cérebro, células β pancreáticas, macrófagos e lesões ateroscleróticas (TSAO et al., 2003).

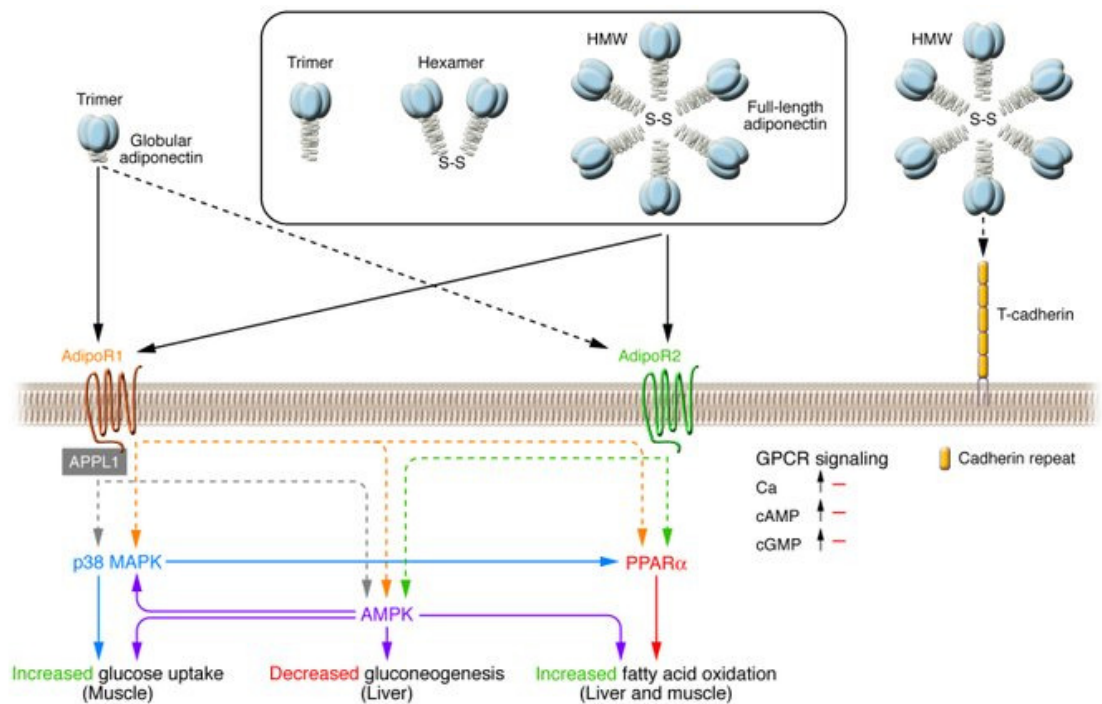


Figura 5: Multimerização de adiponectina. Mostrando as três principais formas de adiponectina encontrado em circulação e as principais vias de sinalização. Fonte: Kadowaki et al., 2006

A adiponectina exerce seus efeitos de sensibilização à insulina aumentando β oxidação de ácidos graxos, e melhorando a sensibilidade à insulina do fígado (YAMAUCHI et al., 2001). Ela também bloqueia a síntese de ácidos graxos e a gliconeogênese nos hepatócitos e estimula a captação e catabolismo da glicose no músculo e no fígado (LEHNINGER, 2005).

De acordo com os primeiros estudos, a adiponectina seria expressa exclusivamente no tecido adiposo a partir de estágios intermediários da adipogênese, tanto no tecido adiposo branco como no tecido adiposo marrom. Apesar dos dados disponíveis serem por vezes contraditórios a secreção de adiponectina é mais abundante na gordura abdominal visceral em relação aos outros tipos de tecido adiposo (gordura subcutânea, perivascular e epicárdica). Recentemente, foi possível identificar a produção de adiponectina em outras células, como células fetais, miócitos, cardiomiócitos, células epiteliais das glândulas salivares, células endoteliais dos

vasos porta e sinusóides hepáticos. (Scherer et al.,1995., apud Fernandes, et al., 2008).

A secreção da adiponectina é regulada por várias substâncias, a insulina promove um aumento da secreção da proteína, enquanto substâncias como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), glicocorticóides, agonista beta-adrenérgicos e AMPc diminuem a expressão da adiponectina (STUMVOLL; STEFAN, 2002).

Os bloqueadores do eixo renina-angiotensina (ramipril, losartan) aumentam significativamente os níveis de adiponectina. O mecanismo inclui efeitos na captação intracelular de glicose mediado pela insulina, indução da diferenciação dos adipócitos e ativação dos receptores PPAR γ (FURUHASHI et al., 2003).

Estudos da resposta da metabólica de células do fígado, músculo esquelético e tecido adiposo indicam que a ativação de AMP quinase (AMPK) é essencial para os efeitos da adiponectina. A AMPK é ativada por uma variedade de condições, como estresse celular associado ao acúmulo de AMP que é gerado a partir de ATP (Adenosina Tri-Fosfato). A AMPK tem sido implicada na ação da metformina e das tiazolidinedionas (Rosiglitazona e a Pioglitazona), fármacos utilizados na sensibilização à insulina, sugere uma ação mediadora desses dois fármacos antidiabéticos reforçando os efeitos da adiponectina (CURI E LIMA apud AIRES, 2008).

Pesquisas indicam que existe forte correlação entre aumento dos níveis de insulina e diminuição dos níveis de adiponectina. Além disso, foi descrita uma associação positiva entre os níveis de adiponectina e o grau de captação de glicose estimulada

pela insulina, sugerindo que a proteína seja um sensibilizador da insulina *in vivo* (LINDSAY et al., 2002).

Em estudos realizados com macacos Rhesus, a diminuição da concentração plasmática de adiponectina precedeu à hiperglicemia a resistência a insulina (HOTTA et al., 2001).

Os efeitos vasculares da adiponectina envolvem ações na disfunção endotelial aumentando a produção de óxido nítrico (NO), pela ativação do AMPK que consequentemente aumenta a expressão da síntese de NO endotelial (CHEN et al., 2003).

A resposta anti-inflamatória da adiponectina parece ser medida pelas concentrações de outras citocinas pró-inflamatória, mais especificamente a IL-6, o TNF α e a proteína C reativa (PRADO et al., 2009). Acredita-se que a redução da adiponectina em indivíduos obesos pode ser devido a supressão transcricional, visto que citocinas pró-inflamatórias como por exemplo, a IL-6 aumentam sua expressão gênica na obesidade podendo causar diminuição do mRNA da adiponectina (HOPKINS et al., 2008).

As concentrações de adiponectina plasmática têm mostrado correlação negativa com a glicose, insulina, triglicerídeos e índice de massa corporal, e positiva com os níveis de colesterol e lipoproteínas de alta densidade (CHEONG et al., 2010). Essas concentrações variam com o sexo, a idade e o jejum, apresentando ritmo circadiano com um pico durante a manhã e diminuição (até 30%) à noite, estando ausente na obesidade e diabetes tipo 2 (CASTRO, 2009).

Em crianças pré-púberes, diferentemente dos adultos, não há diferença nas concentrações séricas de adiponectina entre os sexos e em adolescentes as concentrações séricas totais de adiponectina, diminuem em meninos conforme a

progressão da puberdade de modo inverso ao aumento das concentrações séricas de testosterona (NISHIMURA et al, 2007; ANDERSEN et al, 2007)

Em crianças e adolescentes, de forma semelhante ao observado em adultos, a adiponectina correlaciona inversamente com a obesidade e aumenta com o emagrecimento de crianças (STEFAN et al, 2002; ASAYAMA et al, 2003; LAZZER et al, 2005). Assim, concentrações séricas de adiponectina em crianças e adolescentes correlacionam negativamente às doenças metabólicas relacionadas à obesidade e resistência à insulina.

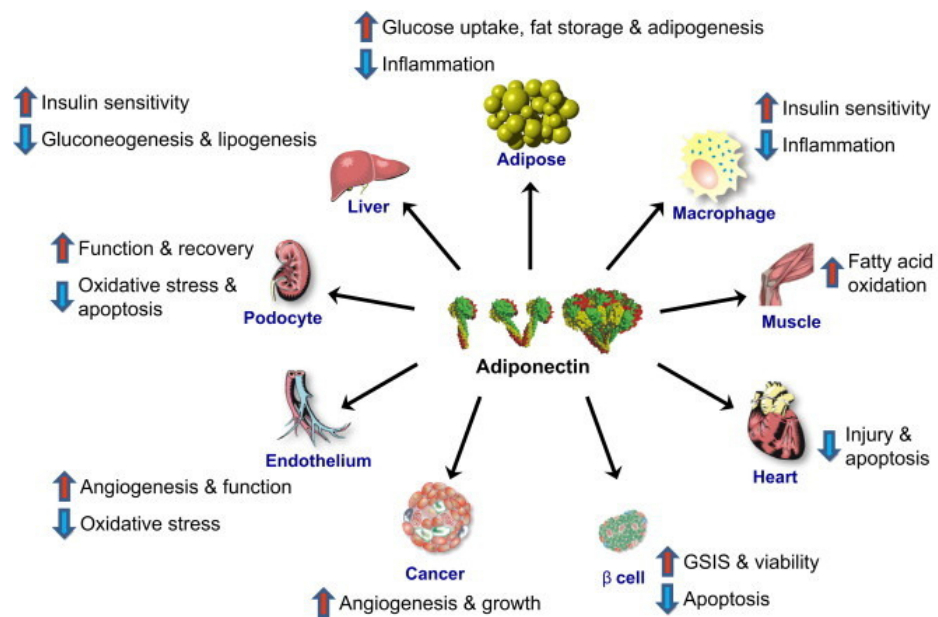


Figura 6: Alterações fisiológicas e celulares em resposta a adiponectina em tecidos alvos. Fonte: YE e SCHERER, 2013.

Vários polimorfismos de DNA de um único nucleotídeo (SNP- *single nucleotide polymorphism*) do gene que codifica a adiponectina relataram estar significativamente associados a concentração circulante desta proteína e o desenvolvimento de certas patologias podem ser hereditárias.

Com base nos SNP descritos e nas indicações de que as variantes polimórficas: rs2241766 (45T>G); rs1501299 (276G>T); rs17300539 (11391 G>A) e rs 266729 (11377C>G) (Figura 7) no gene da adiponectina modulem as concentrações da proteína no plasma sanguíneo, sendo os 4 SNPs selecionados para este estudo, considerados SNPs Tag, segundo HIVERT et al (2008).

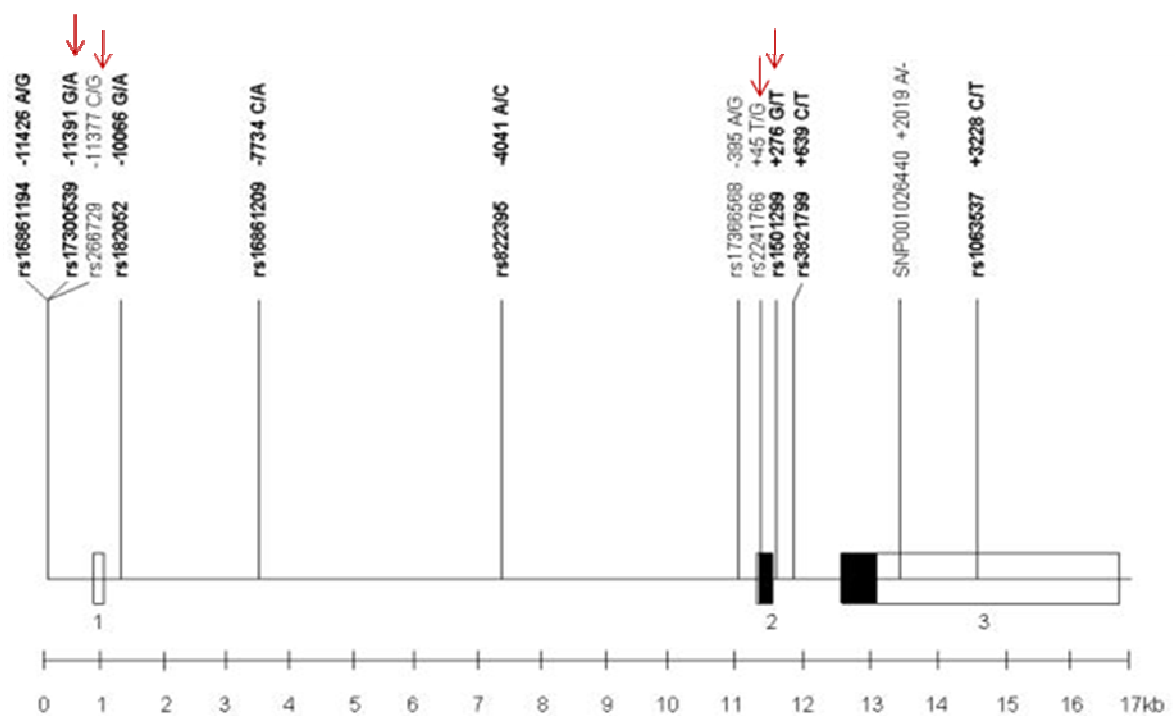


Figura 7: Mapa genômico do gene *ADIPOQ* com localização de polimorfismos. Marcação de SNPs estudados com seta vermelha. Caixas representam exons, caixas abertas representam regiões não traduzidas. Fonte: KYRIAKOU et al, 2008 (Modificado).

O SNP rs 17300539 (-11391G>A) está localizado na região promotora proximal do gene *ADIPOQ* e consiste na troca de guanina para adenina. Influencia na transcrição do *ADIPOQ* e relaciona-se a maiores concentrações séricas de adiponectina em adultos e crianças com e sem obesidade (BOUATIA-NAJI, 2006).

Estudos de associação entre o SNP (-11391G>A) e diabetes tipo 2 (VASSEUR et al., 2002; GU et al, 2004; VAXILLAIRE et al., 2008) e com o nível de adiponectina (VASSEUR et al., 2002; HENNEMAN et al., 2010; LONG et al., 2010; WASSEL et al., 2010) têm apresentado resultados divergentes (QUEIROZ et al, 2012). Em

estudo realizado com crianças italianas PETRONE et al (2006) verificou que este SNP está associado com menores níveis de adiponectina plasmática, níveis elevados de insulina de jejum e com o índice HOMA-IR. Estes autores também observaram que crianças portadoras do alelo G, apresentaram níveis elevados de glicose e insulina em jejum, HOMA-IR e triglicerídeos. Mitiraoui et al (2012), em estudo de caso-controle para DT2, realizado com adultos residentes na Tunísia, verificaram maior chance de DT2 entre portadores do alelo A para o SNP - 11391 G>A, num modelo aditivo.

Também localizado na região promotora do gene *ADIPOQ*, o SNP rs 266729 (-11377 C>G) está relacionado ao maior risco de obesidade e IMC, bem como menor HOMA-IR em crianças obesas (BOUATIA-NAJI et al, 2006). Han et al (2011) ao realizarem estudo de meta-análise que compararam as frequências genóticas para o SNP -11377C>G em indivíduos com e sem o diagnóstico de DT2 em diversas populações, encontraram maior prevalência do genótipo GG e GC indicando assim, predisposição de indivíduos portadores desses genótipos para o desenvolvimento de DT2. PETRONE et al (2006) verificou que crianças portadoras dos genótipos GG e GC apresentaram níveis elevados de glicose, insulina de jejum, HOMA-IR e triglicerídeos.

O polimorfismo rs 1501299 (276 G>T), localizado no intron 2, tem sido associado com variáveis metabólicas e doenças associadas. O alelo T deste SNP foi associado à hipoadiponectinemia (CHEUNG et al, 2014), porém, devido à complexidade de fatores que controlam a expressão de adiponectina, resultados diversos são encontrados. Além disso, muitos estudos não conseguem estabelecer uma relação direta entre a hipoadiponectinemia e distúrbios metabólicos (LARA-CASTRO et al, 2007, TURECK et al, 2015).

ZACHAROVA et al (2005), afirmam que o SNP 276 G>T está associado com a predisposição ao risco doenças cardiovasculares, e segundo KAWAI et al (2013), o alelo T deste SNP é considerado fator de risco independente para ocorrência de acidente vascular cerebral (AVC).

O SNP rs2241766 (+45T>G), caracterizado pela troca de uma tirosina por guanina na posição +45 do exon 2 influencia a expressão de *ADIPOQ*, e está associado à obesidade, resistência a insulina (RI), síndrome metabólica (SM) (LU et al, 2014; BOUATIA-NAJI et al, 2006; KRIZOVA *et al*, 2007), hipoadiponectinemia e DT2 em diferentes populações (VENDRAMINI et al, 2010). O *Quebec Family Study* comprovou sua associação com adiposidade generalizada e abdominal (Melistas et al, 2009; Musso et al, 2008; Loos et al, 2007). Em estudo realizado na população Iraniana, os indivíduos portadores do alelo G apresentaram maiores riscos para desenvolver diabetes tipo II (MOHAMMADZADEH & ZARGHAMI, 2009).

2 JUSTIFICATIVA

Os custos da obesidade e suas consequências negativas para a saúde foram estimados entre 0,7% e 7,0% dos gastos nacionais com saúde em todo o mundo (Nisse,2012) e no Brasil os custos decorrentes com doenças relacionadas ao sobrepeso e a obesidade, são substanciais para o SUS chegando a aproximadamente representam cerca de 8% do total de gastos em saúde pública (ABESO,2016).

A estimativa mundial do gasto anual de um indivíduo para o controle do diabetes, em 2015, foi de US\$ 1.622 a US\$ 2.886. Estimativas brasileiras sobre despesas com o tratamento ambulatorial de indivíduos com diabetes no Sistema Único de Saúde (SUS) foram da ordem de US\$ 2.108 por indivíduo, dos quais US\$ 1.335 (63,3%) são custos diretos (SBD 2017-2018)

Utilização dos SNPs da ADIPOQ como marcadores moleculares de gene com predição de risco de excesso de peso, obesidade, diabetes e as complicações associadas.

3 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Verificar se existe associação entre polimorfismo e/ou haplótipos no gene da *ADIPOQ* e a susceptibilidade ao excesso de peso e as alterações na homeostasia da glicemia em adolescentes matriculados na rede estadual de ensino da Região Metropolitana da Grande Vitória-ES.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a distribuição das frequências alélicas e genotípicas dos polimorfismos SNPs rs17300539 (11391 G>A); rs 266729 (11377C>G); rs2241766 (45T>G) e rs1501299 (276G>T) do gene *ADIPOQ*.
- Realizar a reconstrução dos haplótipos para os SNPs rs17300539 (11391 G>A); rs 266729 (11377C>G); rs2241766 (45T>G) e rs1501299 (276G>T) do gene *ADIPOQ*.
- Verificar se há associação dos polimorfismos e haplótipos do gene *ADIPOQ* a parâmetros antropométricos e bioquímicos, bem como susceptibilidade à ao excesso de peso e alterações na homeostasia glicêmica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Sujeitos e Dados Clínicos

Estudo transversal de base populacional realizado em uma subamostra composta de trezentos e cinquenta adolescentes de 10 a 14 anos, matriculados em escolas públicas estaduais, distribuídas em sete municípios da Região Metropolitana da Grande Vitória – ES (RMGV). Esses adolescentes apresentaram status socioeconômico semelhante. Foram excluídos aqueles com obesidade secundária, doenças inflamatórias agudas ou crônicas ou em uso de corticosteroide e/ou anti-inflamatório.

As avaliações físicas foram realizadas nas escolas, entre agosto de 2012 e outubro de 2013. Foram obtidos os dados antropométricos (peso e estatura), aferida a pressão arterial e realizada coleta de 10 mL de sangue venoso, após jejum de 12 horas, para avaliação dos níveis séricos de glicose e insulina de jejum e estudo molecular.

Para classificação do estado nutricional foi considerado o índice de massa corpórea/Idade (IMC/I), em escore z, referente às curvas da Organização Mundial de Saúde, utilizando-se o software WHO AnthroPlus versão 1.0.33. Foram incluídos no grupo com excesso de peso os adolescentes que apresentaram escore $z \geq +1$ e no grupo sem excesso de peso aqueles com escore $z < +1$. A glicose foi dosada no equipamento Dimension (Siemens Healthcare Diagnostics inc[®]) por meio do kit GLUC Flex e método enzimático colorimétrico, considerando ponto de corte de glicemia de jejum alterada ≥ 100 mg/dL, pré-diabetes com glicemia de jejum alterada entre 100-125 mg/dl e Diabetes com glicemia de jejum alterada ≥ 126 mg/dl segundo a International Diabetes Federation / International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes. A Insulina foi analisada no equipamento Architect (Abbott Laboratories[®]) que utiliza Kit reagente Architect Insulin e método de quimioluminescência, considerando insulina aumentada $\geq$ percentil 90, segundo estágio puberal e gênero.

Model Assessment-Insulin Resistance (HOMA-IR) , homeostais model assessment- β cell funtion Para avaliar a resistência à insulina foram calculados os índices de Homeostasis (HOMA- β %) , HOMA BETA-B% e homeostais model assessment S% (HOMA-S%) através do *software HOMA2 CALCULATOR* com ponto de corte $\geq 3,16$ para (HOMA-IR), sendo calculada pela fórmula matemática $HOMA\ IR = [(glicemia\ em\ mmol/L) \times (insulinemia\ em\ \mu U/mL)] / 22,5$

Para a classificação de raça foi adotado o sistema classificatório, baseado na autodeclaração racial, proposto pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (22), que emprega cinco categorias de cor (branca, preta, amarela, parda ou indígena).

4.2 Isolamento de DNA e Genotipagem

O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico de acordo com o protocolo de Miller (1988) (28). Para amostras com quantidade de sangue inferior a 2 ml foi utilizado o Kit comercial Puregene (Qiagen [ ]).

O DNA foi amplificado pelo método de reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, utilizando ensaios discriminação alélica com sondas de hidrólise – Taqman – desenhadas e validadas pela Life Technology[ ]. A PCR foi realizada em Termociclador 7500 (Life Technology[ ]) nas seguintes condições: desnaturação inicial por 1 minuto a 60  C e 10 minutos a 95 C, seguido por 40 ciclos de 15 segundos a 95 C, 1 minuto a 60 C e extensão final por 1 minuto a 60 C. Controles positivos e negativos foram utilizados. Como o material inicial para cada reação de genotipagem alelo-específica foi proveniente da mesma amostra de DNA, uma foi utilizada como controle positivo para a outra na detecção de resultados falsos negativos secundários   falha na extração ou   presença de inibidores.

4.3 Reconstrução de haplótipos

Para determinar o par de haplótipos de cada paciente a reconstrução do haplótipo foi realizada utilizando o programa PHASE v.2.1.1 no modelo padrão para variação rara de recombinação. Quatro execuções independentes com 1000 interações, 500 interações de *burn-in* e um intervalo de *thinning* foram realizados. A melhor execução que mostrou a consistência máxima dos resultados que aplicaram o algoritmo PHASE repetidamente com valores padrão e variáveis de número de interação, e o intervalo de afinamento foi buscado. Todas as quatro corridas mostraram consistência.

4.4 Análises Estatísticas

Foram analisadas informações antropométricas e clínicas dos indivíduos da amostra para verificar se os polimorfismos em questão estavam associados a parâmetros como: raça, sexo, Índice de Massa Corporal (IMC), glicemia, HOMA-IR, HOMA- $\beta\%$ e HOMA-S%). Os adolescentes foram divididos em dois grupos: com excesso de peso e sem excesso de peso. As frequências alélicas foram obtidas por contagem gênica e testadas quanto ao equilíbrio de Hardy-Weinberg usando o teste de qui-quadrado. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SPSS versão 23.0, sendo que a escolha dos testes não paramétricos se deu devido a distribuição não normal dos dados verificado pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Associações entre variáveis qualitativas foram realizadas pelo teste qui quadrado ou exato de Fischer. Os grupos genotípicos foram comparados tanto para o modelo dominante, modelo recessivo e modelo aditivo utilizando o teste de Mann-Whitney para variáveis quantitativas. As variáveis laboratoriais e antropométricas foram analisadas no total de indivíduos utilizando o teste Kruskal-Wallis. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo.

5 RESULTADOS

Trezentos e cinquenta e cinco adolescentes com mediana da idade de 12,8 anos de 10 a 14,9 anos) foram incluídos no estudo (Tabela 4). Destes, 241 estavam sem excesso de peso e 109 com excesso de peso. Embora nenhum dos sujeitos tivesse diabetes, o pré-diabetes foi detectado em 4 (3,6%) com excesso de peso e em 9 (3,7%) eutróficos. A hiperinsulinemia foi detectada em 46 (41,8%) adolescentes com excesso de peso e em 28 (11,4%) adolescentes sem excesso de peso. Foi observado que 30 (8,45%) adolescentes foram classificados com obesidade e 3 (0,84%) com obesidade grave. Raça ($p=0.67$), sexo ($p=0.86$) e idade ($p=0.09$) não diferiram entre os grupos.

A Tabela 5 mostra as frequências genotípicas e alélicas entre adolescentes com excesso de peso e sem excesso de peso para os SNPs rs2241766 (+45 T> G) e rs1501299 (+276 G> T). Também resume as frequências para os modelos genéticos dominante, recessivo e aditivo para os grupos. As frequências estão HWE para ambos os polimorfismos ($p> 0,05$).

Não foram verificadas associação entre adolescentes com excesso de peso e sem excesso de peso para os SNPs rs17300539 (113910 G>A) e rs 266729 (11377C>G, conforme tabela 6).

Tabela 4: Características antropométricas, clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil.

		Adolescentes	Excesso de Peso	Sem excesso de peso	p-value
N		350	109	241	
Idade (anos)		12.8 (10–14,9)	12.65 (10.4–14.8)	12.8 (10–14,9)	0.09
Peso (Kg)		47.8 (23.8–94.4)	59.45 (39.3–94.4)	43.4 (23.8–65.9)	0.00
Altura (cm)		155.2 (130–186.3)	156.9 (134–186.3)	154.4 (130– 184,8)	0.03
BMI (z-score)		0.23 (-3.2–3.44)	1.7 (1.02–3.44)	-0.15 (-3.2– 1.0)	0.00
Glicose em jejum (mg/dL)		88 (58–112)	89 (64–112)	88 (58–107)	0.30
Insulina (mcU/mL)		11.69 (0.4–48.72)	15.97 (2.93–48.72)	10.1 (0.4–44.6)	0.15
HOMA-IR		2.94 (0,08–11,90)	3.79 (0.64–11.9)	2.19 (0.08–10.23)	0.00
HOMA-β%		149.00 (16,00-444,00)	174.00 (51,00-407,00)	137.00 (16,00-444,00)	0.00
HOMA-S%		81,00 (17-1939,00)	56.00 (17-261,00)	92.00 (16-1939.00)	0.00
Gênero (%)	M	136 (38.9%)	42 (38.25%)	96 (39.2%)	0.86
	F	214 (61.1%)	68 (61.8%)	149 (60.8%)	
IFG n (%)	N	338 (96.5%)	106 (96.4%)	232 (96.3%)	0.99
	A	12 (3.5%)	4 (3.6%)	8 (3.7%)	
Insulina CUART	N	280 (78.9%)	63 (57.8%)	217 (88.6%)	0.70
	A	74 (20.8%)	46 (42.2%)	28 (11.4%)	
Raça n (%)	Branco	96 (27%)	31 (28.2%)	72 (29.4%)	0.67
	Preta	103 (29%)	52 (47.3%)	104 (42.4%)	
	Parda	156 (43.9%)	27 (24.5%)	69 (28.2%)	

BMI= Índice de massa corporal (z-score); HOMA IR= Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance; HOMA-β%= Homeostasis Model Assessment-β-cell function; HOMA S %= Homeostasis Model Assessment- Insulin Sensitivity; IFG = Impaired fasting glucose.

Tabela 5: Genótipos, frequências alélicas e modelos genéticos para os polimorfismos rs2241766 (+45 T> G) e rs1501299 (+276 G> T) em adolescentes de escolas públicas da região Metropolitana de Vitória, ES, Brasil.

	45 T>G		p	276 G>T		p
	Excesso de Peso	Sem excesso de Peso		Excesso de Peso	Sem excesso de Peso	
Genótipo						
TT	89 (81.7%)	202 (83.5%)	0.04	42 (38.5%)	26 (10.6%)	0.92
TG	17 (15.6%)	40 (16.5%)		54 (49.5%)	126 (51.4%)	
GG	3 (2.8%)	0 (0%)		13 (11.9%)	93 (38.0%)	
Frequência Alélica						
T	23 (10.6%)	40 (8.3%)	0.33	80 (36.7%)	178 (36.4%)	0.92
G	195 (89.4%)	444 (91.7%)		138 (63.3%)	312 (63.6%)	
Modelo Dominante						
TT +TG	106 (97.2%)	242 (100%)	0.03	67 (61.5%)	152 (62.0%)	0.72
GG	3 (2.8%)	0 (0%)		42 (38.5%)	93 (38.0%)	
Modelo Recessivo						
GG +TG	20 (18.3%)	40 (16.5%)	0.68	96 (88.1%)	219 (89.4%)	0.92
CC	89 (81.7%)	202 (83.5%)		13 (11.9%)	26 (10.6%)	
Modelo Aditivo						
GG	89 (96.7%)	202 (100%)	0.03	42 (76.4%)	93 (78.2%)	0.79
TT	3 (3.3%)	0 (0%)		13 (23.6%)	26 (21.8%)	

Investigamos também a associação entre polimorfismos da ADIPOQ e modelos genéticos com as variáveis antropométricas e metabólicas dos adolescentes. Para o SNP +45 T> G, as variáveis analisadas não apresentaram associação significativa com os genótipos. Quanto aos modelos genéticos, o modelo TT + TG foi associado ao peso ($p = 0,01$), estatura ($p = 0,02$) e IMC por idade ($p = 0,02$).

Tabela 6: Genótipos, frequências alélicas e modelos genéticos para os polimorfismos e rs 266729 (-11377C>G) e rs17300539(-113910 G>A) em adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.

	11377C>G				113910 G>A		
	Excesso de Peso	Sem excesso de Peso	P		Excesso de Peso	Sem excesso de Peso	P
Genótipo				Genótipo			
CC	24 (75.0%)	210 (65.0%)	0.39	GG	23 (71.9%)	264 (81.7%)	0.36
CG	6 (18.8%)	98 (30.3%)		AG	9 (28.1 %)	58 (18.0%)	
GG	2 (6.3%)	15 (4.6%)		AA	0 (0.0%)	1 (0.3%)	
Frequência Alélica				Frequência Alélica			
C	54 (84.3%)	518 (80.1%)	0.58	G	55 (85.9%)	584 (90.9%)	0.85
G	10 (15.3%)	128 (19.9%)		A	9 (14,1%)	58 (9.1%)	
Modelo Dominante				Modelo Dominante			
CC +CG	30(93.8%)	308 (95.4%)	0.68	GG	85 (77.3%)	202 (82.4%)	0.25
GG	2 (6.3%)	15 (4.6%)		AG+AA	25 (22.7%)	43 (17.6%)	
Modelo Recessivo							
GG +CG	8(25.0%)	113 (35.0%)	0.25	*	*	*	
CC	24 (75.0%)	210 (65.0%)					

Tabela 7: Associação do polimorfismo rs2241766 (45 T> G) da ADIPOQ com características clínicas e bioquímicas de adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.

		45 T>G rs2241766							
		TT	TG	GG	p-value	TT+TG	p	GG + TG	p-value
Idade (anos)		12.7 (10–14.9)	13.1 (10.4–14.90)	13.3 (12.90–13.40)	0.41	12.8 (10.00–14.90)	0.42	13.15 (10.40–14.90)	0.33
Peso (Kg)		47.6 (25.4–94.4)	48.1 (23.80–83.50)	74.8 (58.5–90.10)	0.09	47.7 (23.80–94.40)	0.01	48.2 (23.80–90.10)	0.51
Estatura (cm)		155 (134 – 184.8)	155.1 (130,00–178.20)	168.3 (160.60–186.30)	0.12	155 (130.00–184.80)	0.02	155.6 (13.00–186.30)	0.60
BMI (z-score)		0.23 (-3.2–3.44)	0.21 (-2.22–3.12)	2.12 (1.54–2.22)	0.12	0.22 (-3.20–3.44)	0.02	0.23 (-2.22–3.12)	0.52
Glicemia em jejum (mg/dL)		88 (64–112)	86 (58.00–99.00)	83 (72.00–85.00)	0.17	88 (58.00–112.00)	0.10	85.5 (58.00–99.00)	0.08
Insulina (mcU/mL)		11.67 (2.4–44.49)	11.9 (0.40–48.72)	14.07 (8.64–14.63)	0.96	11.69 (0.40–48.72)	1.00	11.98 (0.40–48.72)	0.84
HOMA-IR		2.48 (0.52–10.01)	2,58 (0,08 - 11,90)	2.5 (1.81–3.00)	0.96	2.5 (0.08–11.90)	0.80	2.57 (0.08–11.90)	0.62
Gênero n (%)	M	112 (31.9%)	21 (6%)	3 (0.9%)	0.09	133 (37.9%)	0.06	24 (6.8%)	0.89
	F	179 (51%)	36 (10.3%)	0 (0.0%)		215 (61.3%)		36 (10.3%)	
IFG (%)	N	278 (79.2%)	57 (16.2%)	3 (0.9%)	0.25	335 (95.4%)	1.00	60 (17.1%)	0.10
	A	13 (3.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)		13 (3.7%)		0 (0.0%)	
Insulina	N	188 (53.6%)	40 (11.4%)	3 (0.9%)	0.33	228 (65%)	0.55	43 (12.3%)	0.29
	A	103 (29.3%)	17 (4.8%)	0 (0.0%)		120 (34.2%)		17 (4.8%)	
Raça n (%)	W	88 (25.1%)	11 (3.1%)	2 (0.6%)	0.20	99 (28.2%)	0.24	13 (3.7%)	0.31
	B	128 (36.5%)	27 (7.7%)	0 (0.0%)		155 (44.2%)		27 (7.7%)	
	Bl	75 (21.4%)	19 (5.4%)	3 (0.9%)		94 (26.8%)		60 (17.1%)	

BMI= Índice de massa corporal (z-score); HOMA IR= Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance; IFG = Impaired fasting glucose

Tabela 8: Associação do polimorfismo ADIPOQ rs1501299 (276 G> T) com características clínicas e bioquímicas de adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.

		276 G>T <i>rs1501299</i>							
		GG	GT	TT	p	GG + TG	p	TT + TG	p
Idade (anos)		128 (10–14.8)	12.85 (10.4–14.9)	12.4 (10.1–14.6)	0.08	12.8 (10–14.9)	0.05	12.8 (10.1–14.9)	0.72
Peso (Kg)		48,8 (26.1–94.4)	47.35 (23.8–90.4)	46.5 (29.3–62.6)	0.17	47.8 (23.8–94.4)	0.14	47.3 (23.8–90.4)	0.20
Estatutura (cm)		156 (135–186.3)	155.15 (130–175.2)	153.2 (134–167.7)	0.42	155.6 (130–186.3)	0.11	155 (130–175.2)	0.49
BMI (z-score)		0,25 (-2.37–3.44)	0.205 (-3.2–2.96)	0.23 (-2.77–2.67)	0.63	0.23 (-3.2–3.44)	0.70	0.21 (-3.2–2.96)	0.58
Glicemia em jejum (mg/dL)		87 (64–107)	89 (58–107)	88 (70–112)	0.06	88 (58–107)	0.93	89 (58–112)	0.02
Insulina (mcU/mL)		11.67 (0.4–39.3)	11.89 (2.93–48.72)	9.61 (3.14–41.84)	0.53	11.83 (0.4–48.72)	0.20	11.71 (2.93–48.72)	0.79
HOMA-IR		2.5 (0.08–8.9)	2.58 (0.53–11.9)	2.11 (0.54–10.01)	0.37	2.55 (0.08–11.9)	0.20	2.48 (0.53–11.9)	0.55
Gênero n (%)	M	50 (37%)	69 (38.3%)	19 (48.7%)	0.41	119 (37.8%)	0.19	88 (40.2%)	0.56
	F	0 (0%)	0 (0%)	1 (2.6%)		196 (62.2%)		131 (59.8%)	
IFG (%)	N	133 (98.5%)	170 (94.4%)	38 (97.4%)	0.15	303 (96.2%)	0.70	208 (95%)	0.09
	A	2 (1.5%)	10 (5.6%)	1 (2.6%)		12 (3.8%)		11 (5%)	
Insulina	N	111 (82.2%)	135 (75.4%)	33 (84.6%)	0.23	246 (78.3%)	0.36	168 (77.1%)	0.25
	A	24 (17.8%)	44 (24.6%)	6 (15.4%)		68 (21.7%)		50 (22.9%)	
Raça n (%)	W	40 (29.6%)	51 (28.3%)	12 (30.8%)	0.83	91 (28.9%)	0.52	63 (28.8%)	0.81
	B	61 (45.2%)	80 (44.4%)	14 (35.9%)		141 (44.8%)		94 (42.9%)	
	BI	34 (25.2%)	49 (27.2%)	13 (33.3%)		83 (26.3%)		62 (28.3%)	

BMI= Índice de massa corporal (z-score); HOMA IR= Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance; IFG = Impaired fasting glucose.

Tabela 9: Associação do polimorfismo ADIPOQ rs 266729 (11377C> G) com características clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil.

		rs 266729 (11377C>G)						
		CC	CG	GG	p-value		p-value	p-value
Idade (anos)		12.7 (10.1–14.9)	13.0 (10–14.8)	12.4 (10.1–14.6)	0.142	12.7(10.8–14.7)	0.05	12.9 (10-14.8)
Peso (Kg)		48,1 (23.8–94.4)	46.0 (28.8–83.5)	48.1 (28–78.9)	0.557	47.8 (28.–94.4)	0.14	46 (28–84.0)
Estatura (cm)		155.3 (130–186.3)	154.7 (135.6–175.4)	156.2 (139.3–163.3)	0.879	155.1 (130.3–186.3)	0.11	155 (136–175.0)
BMI-for-age(z-score)		0,28 (-3.2–3.44)	0.07 (-1.7–2.50)	0.48 (-2.37–2.50)	0,240	0.22 (-3.2–3.44)	0.70	0.21 (-3.2–2.6)
Glicemia em Jejum (mg/dL)		88 (58–112)	88 (65–107)	89 (83–105)	0.378	88.5 (58–107)	0.93	89 (58–112)
Insulina (mcU/mL)		11.77 (0.4–41.8)	11.4 (2.40–48.72)	10.43 (4.28–34.31)	0.523	11.8 (0.4–48.72)	0.20	13.0 (2.0–49.0)
HOMA-IR		2.5 (0.08–8.9)	2.58 (0.53–11.9)	2.11 (0.54–10.01)	0.37	2.55 (0.08–11.9)	0.20	2.48 (0.53–11.9)
Gênero (%)	M	50 (37%)	69 (38.3%)	19 (48.7%)	0.41	119 (37.8%)	0.19	88 (40.2%)
	F	0 (0%)	0 (0%)	1 (2.6%)		196 (62.2%)		131 (59.8%)
IFG (%)	N	133 (98.5%)	170 (94.4%)	38 (97.4%)	0.15	303 (96.2%)	0.70	208 (95%)
	A	2 (1.5%)	10 (5.6%)	1 (2.6%)		12 (3.8%)		11 (5%)
Insulina	N	111 (82.2%)	135 (75.4%)	33 (84.6%)	0.23	246 (78.3%)	0.36	168 (77.1%)
	A	24 (17.8%)	44 (24.6%)	6 (15.4%)		68 (21.7%)		50 (22.9%)

BMI= Índice de massa corporal (z-score); HOMA IR= Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance; IFG = Impaired fasting glucose.

Tabela 10: Associação do polimorfismo da ADIPOQ rs17300539 (11391 G> A) com características clínicas e bioquímicas de adolescentes de escolas públicas de Vitória, ES, Brasil.

	rs17300539 (113910 G>A)					
	AA*	AG	GG	p-value		p-value
Idade (anos)	12.0 (12-12)	13.2 (10–14.6)	12.3 (10.1–14.2)	0.142	12.7(10.8–14.7)	0.512
Peso (Kg)	53.0 (53-53)	46.0 (28.8–83.5)	45.9 (28.4–83.5)	0.557	46.6 (28.4–83.5)	0.992
Estatura (cm)	157 (157–157)	155.0 (134–171.2)	155.4 (130–186.3)	0.879	155.4 (130.–186.3)	0.796
BMI-for-age(z-score)	1.23(1.23-1.23)	0.07 (-1.7–2.50)	0.48 (-2.37–2.50)	0,240	0.23 (-3.2–3.44)	0.960
Glicemia em Jejum (mg/dL)	88 (58–112)	88 (65–107)	89 (83–105)	0.378	88.5 (58–107)	0.161
Insulina (mcU/mL)	7.28 (7.28)	11.4 (2.40–48.72)	10.43 (4.28–34.31)	0.523	11.4 (0.4–44.49)	0.156
HOMA-IR	2.5 (0.08–8.9)	2.58 (0.53–11.9)	2.11 (0.54–10.01)	0.37	2.55 (0.08–11.9)	0.252

BMI= Índice de massa corporal (z-score); HOMA IR= Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance; IFG = Impaired fasting glucose.

5.1 ANÁLISES DE ASSOCIAÇÕES COM HAPLÓTIPOS

O estudo de haplótipos é interessante por possibilitar um aumento na detecção de regiões de susceptibilidade, se estas forem responsáveis pela variação clínica ou estiverem em forte desequilíbrio de ligação com algum polimorfismo funcional.

5.1.1 Reconstrução dos haplótipos possíveis e prováveis

Os haplótipos foram reconstruídos a partir dos SNPs - 11391 G>A , -11377C>G, +45T>G e +276G>T. O número de combinações possíveis entre os 4 SNPs são 16 haplótipos, no entanto as prováveis combinações nas amostras analisadas são no são 9 permutações, conforme figura 5.

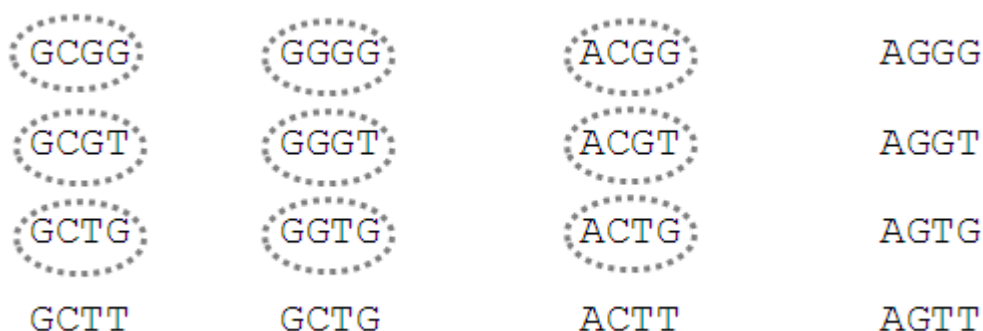


Figura 8: Haplótipos possíveis versus haplótipos prováveis para os SNPs - 113910 G>A , - 11377C>G, +45T>G e +276G>T no gene da ADIPOQ.

* Linha tracejada corresponde aos haplótipos prováveis. Fonte: A autora.

Todos diferentes haplótipos foram estimados GCGG 272 (38,85%); GCTG 180(25,71%); GGGG 111(15,86%); ACTG 61 (8,71%); GCGT 44 (6,29%); GGTG 14 (2,00%); GGGT 12 (1,71 %); ACGT (0,71%) E ACGG 1(0,14%), e somente aqueles

com uma frequência superiores a 5% foram associados as variáveis clínicas e antropométricas, conforme tabela 10.

Tabela 11: Percentual de frequências encontradas para os haplótipos construídos com base nos SNPs - 113910 G>A, -11377C>G, +45T>G e +276G>T, em 350 adolescentes.

GCGG	GCTG	GGGG	ACTG	GCGT	GGTG	GGGT	ACGT	ACGG
(38,86%)								
	(25,71%)							
		(15,86%)						
			(8,71%)					
				(6,29%)				
					(2%)			
						(1,71%)		
							(0,71%)	
								(0,14%)

Fonte: A autora

Também foram reconstruídos os haplótipos por regiões no gene da ADIPOQ, sendo os SNPs - 113910 G>A e -11377C>G da região promotora, e os SNPs +45T>G e +276G>T da região codificante.

Os haplótipos possíveis entre os SNPs da região promotora sao: (GC/GG/AC/AG), sendo observados os haplótipos GC 496 (70,85%); GG 137 (19,5%) e AC 67 (9.5%). Os haplótipos possíveis entre os SNPs da região codificante são: (GG/GT/TG/TT), sendo observados os haplótipos GG 384(54,85%); GT 63 (9,0%) e TG 253 (36,15%), tabela 12.

Tabela 12: Características clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil, avaliados no diferentes haplótipos.

	SNPs - 113910 G>A, -11377C>G, +45T>G e + 276G>T					p
	GCGG	GCTG	GGGG	ACTG	GCGT	
Peso (Kg)	52 (26-94)	47.35 (24-90)	46 (29-66)	49(29-84)	47 (24-90)	0.28
Estatura(cm)	155 (135–185)	155(130–175)	154 (136–175)	155 (134-171)	153 (130–186)	0.85
IMC Kg/m ²	21 (14-34)±4	20 (13-32)±3	19 (14-26)±3	20(14-31)±4	20 (14-26)±4	0.12
Glicemia em Jejum (mg/dL)	85 (64–99)	87 (58–112)	88 (65–107)	89 (66-107)	83 (58–97)	0,033*
Insulina (pmol/L)	94(30-229,3)	98,5(2,8-272,9)	90,1(16,7-309)	110,8(26,4-338,4)	98.5(2.8-272.9)	0.20
HOMA-IR	2,82 (0,68-7,17)	2,92 (0,53-10,1)	2,82 (0,52-9,77)	3.53 (0,76-11,9)	2,92 (0,08-8,72)	0.49
HOMA %β	159.13(86.5-444.1)	124.43(67.9-166.6)	141.21(45.7-364.7)	155.62(64.9-352,1)	124,43(166,6-67,9)	0.61
HOMA% S	71.5(24.6-195.4)	77.63(19.2-261.6)	76.42(18.6-319.4)	67.84(16.6-206.9)	168.7(20.8-1939)	0.46

IMC= Índice de massa corporal; HOMA IR= Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance; HOMA-β%= Homeostasis Model Assessment- β-cell function; HOMA S %= Homeostasis Model Assessment- Insulin Sensitivity.

Tabela 13: Características clínicas e bioquímicas de adolescentes da rede pública de ensino de Vitória, ES, Brasil, avaliados por haplótipos da região promotora e codificante do gene da ADIPOQ.

	SNPs - 113910 G>A e -11377C>G				+45T>G e + 276G>T			
	GC	GG	AC*	p-value	GG	GT	TG	p-value
Idade (anos)	12.7 (10–14.9)	13.1 (10.4–14.90)	12.4 (12.4-12.4)	0.415	12.8 (10.00–14.90)	12 (10.1-13.8)	13.15 (10.40–14.90)	0.431
Peso (Kg)	49 (24-94)	51 (28-84)	50 (50-50)	0.723	49 (26–94.0)±11,8	54 (29-90.0)	48 (24–90)	0.152
Estatura (cm)	155 (130-186)	156 (140-171)	157 (157-157)	0.631	155 (135-184,8)	157 (135-186,3)	155 (130-167,7)	0.583
BMI (z-score)	0,23 (-3-3)	0.4 (-2-3)	1.0 (1-1)	0.765	0.4 (-3.20–3.40)	0.4 (-2,2-2,2)	0.3 (-2.8–2,7)	0.296
Glicemia em Jejum (mg/dL)	87 (58-112)	89 (71-99)	92.0 (92-92)	0.128	86 (64-107)	83(64-93)	88 (58-112)	0.012*
Insulina (pmol/L)	92 (16.5-235)	86.9 (2.5-160.2)	50.6(50.6-50.6)	0.236	93 (16.7-238.8)	87.5 (2.8-170,4	87.5 (2.8-170,4)	0.326
HOMA-IR	2.92 (0.08-10.1)	3.28 (0.60-11.9)	1.65 (1.65-1.65)	0.516	2.9 (0.5-8,9)	2.5 (0.1-2.5)	3.1(0.5-11.9)	0.856
HOMA-B	149.4 (15.8-444.1)	144.4(65.7-296.3)	87.9 (87.9-87.9)	0.322	150.1 (45.7-444.1)	159.1 (15.8-407.2)	146.5 (51-352.1)	0.385
HOMA-S	81.4 (18.6-1939.4)	74.8 (16.6-238)	105.1 (105.1-105.1)	0.455	74.2 (22.6-319.4)	133.5 (35.7-1939.4)	76.4 (16.6-261.6)	0.315

BMI= Índice de massa corporal (z-score); HOMA IR= Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance; HOMA-β%= Homeostasis Model Assessment-β-cell function; HOMA S %= Homeostasis Model Assessment- Insulin Sensitivity;

Os índices de secreção e sensibilidade à insulina foram avaliados em 350 amostras em diversas análises estatística que incluíam os genótipos e os haplótipos dos SNPs - 113910 G>A, -11377C>G, +45T>G e +276G>T do gene da ADIPOQ.

Os resultados foram estratificados em adolescente com excesso e de peso e adolescentes sem excesso de peso para os modelos HOMA IR, HOMA- β % e HOMA S% sendo observado forte associação entre os grupos e as variáveis laboratoriais, apresentando resultado de $p=0,00$.

Para o polimorfismo +45 T>G foi verificado associação para HOMA β % no Percentil 95 (275,3), quando classificada em variável categórica normal 332(95%) e alterada 18 (5%), apresentando para o teste Qui-quadrado de Pearson ($p=0,028$).

Nas análises de reconstrução dos haplótipos gerados a partir dos 4 SNPs - 113910 G>A, -11377C>G, +45T>G e +276G>T foi verificado um resultado significativo com com a glicemia em jejum ($p=0,033$) sendo observado maiores concentrações séricas de glicose o haplótipo ACTG e menores concentrações séricas de glicose para o haplótipo GCGT, conforme gráfico 2. Não foi verificado associação significativa entre os haplótipos com frequência acima de 5% para os modelos de HOMA-IR ($p=0,49$), HOMA-B% ($p=0,61$) e HOMA-S ($p=0,46$), conforme gráfico 1.

Gráfico 1: Haplótipos do gene da AdipoQ para os SNPs - 113910 G>A, -11377C>G, +45T>G e +276G>T associados com os modelos de homeostasia HOMA-IR; HOMA β % e HOMA S%

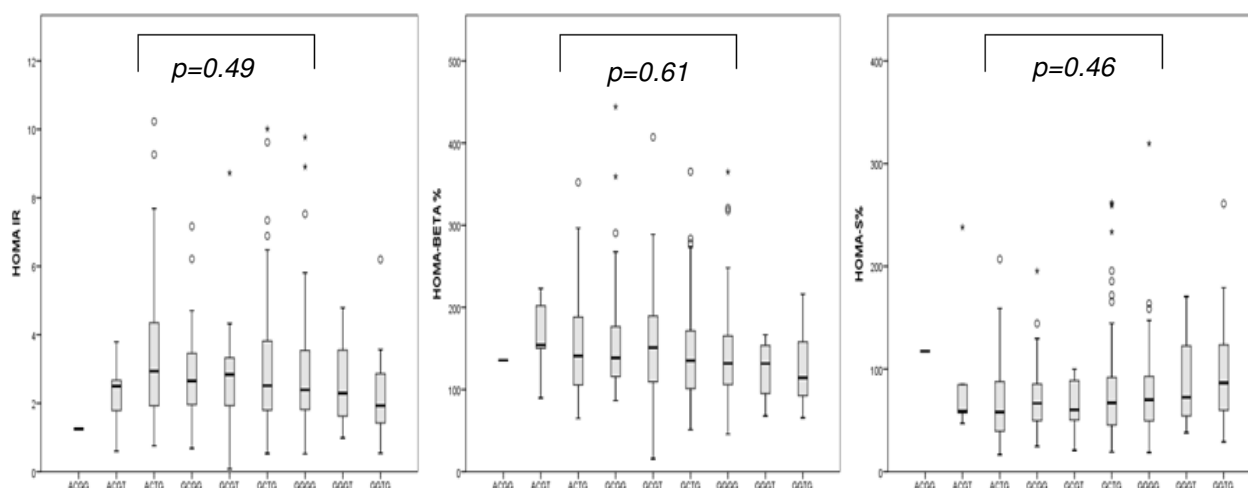
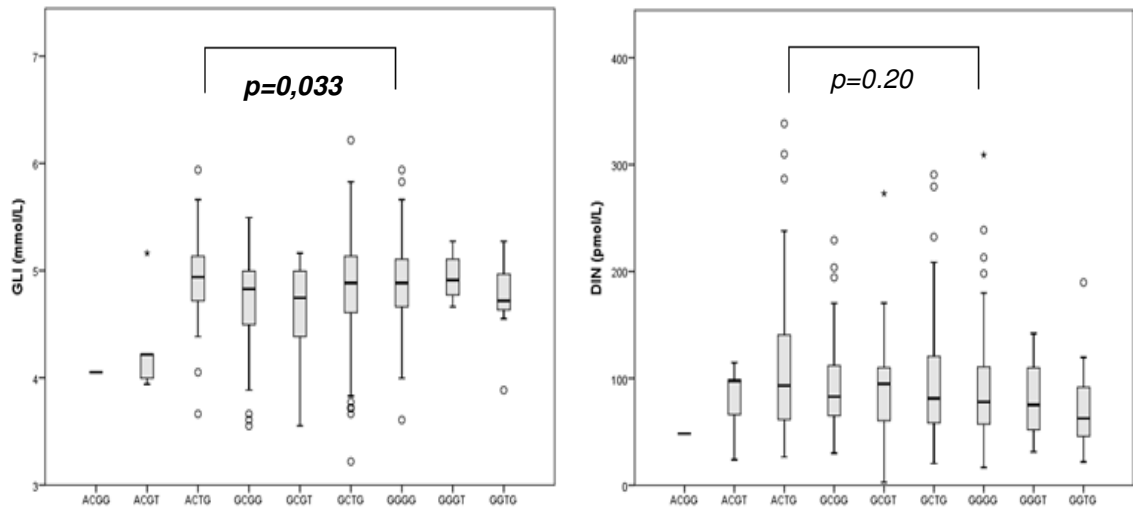
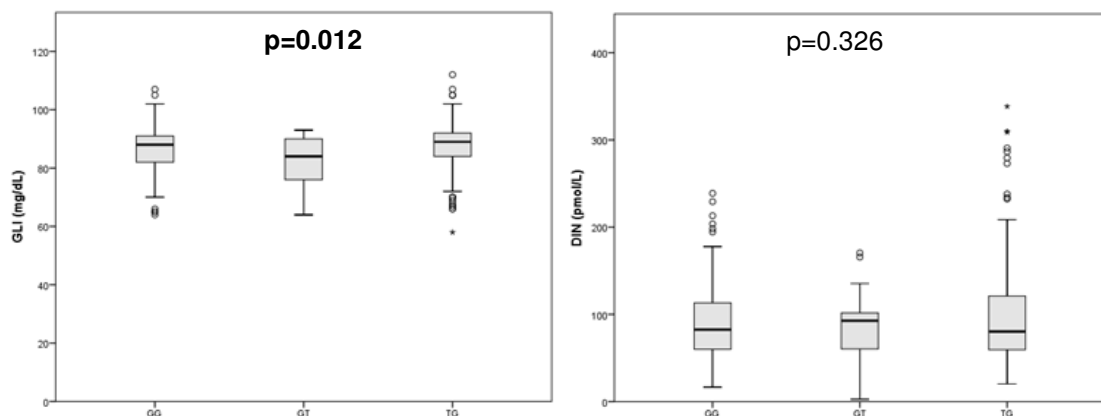


Gráfico 2: Haplótipos do gene da AdipoQ para os SNPs - 113910 G>A, - 11377C>G, +45T>G e +276G>T +276G>T associados com glicose e insulina sérica.



Observamos que os haplótipos da região codificadora +45T>G e +276G>T obtiveram resultado significativo com a glicemia em jejum ($p=0,012$). Sendo observado que o haplótipo TG possui maiores concentrações de glicose, enquanto o haplótipo GT foi associado às menores concentrações séricas de glicose.

Gráfico 3: Haplótipos do gene da AdipoQ na região codificadora SNPs +45T>G e +276G>T associados com glicose e insulina sérica.



Nas análises com os haplótipos foi observado uma tendência entre as associações dos haplótipos da região promotora do gene da ADIPOQ, SNPs - 113910 G>A, e 11377C>G para o modelo com excesso de peso e sem excesso de peso com HOMA-IR com ponto de corte $\geq 3,16$ categorizada em normal e alterada, sendo verificada associação no teste de Qui-quadrado de Pearson ($p= 0,05$) com correlação para o haplótipo CG.

Não observamos outras diferenças significativas entre os grupos.

6 DISCUSSÃO

Os SNPs da ADIPOQ - 113910 G>A , -11377C>G, +45T>G e +276G>T foram estudados em diferentes populações. Embora os resultados sejam contraditórios, há evidências que as variações genéticas do gene ADIPOQ em adultos estão associadas ao diabetes tipo 2 (DT2).

Neste estudo, verificamos que o genótipo GG e os modelos genéticos aditivo (TT x GG) e dominante para T (TT + TG x GG), do polimorfismo rs2241766 +45 T> G, explicaram uma alteração do IMC para idade nos adolescentes (Tabela 5). No entanto, estudos anteriores não mostraram evidências para a associação entre o polimorfismo +45 T> G e o risco de obesidade em crianças e adolescentes de heranças francesa e espanhola (Bouatia-Naji et al., 2006; Moleres et al., 2012; Riestra et al., 2012). Outros SNP ADIPOQ (rs1501299 e rs17300539) parecem estar associados ao sobrepeso (Kasin et 2016).

Em indivíduos obesos, os níveis de adiponectina estão significativamente reduzidos, ou seja, há uma correlação negativa entre o IMC e os níveis plasmáticos de adiponectina. A razão pela qual os níveis de adiponectina são reduzidos em indivíduos obesos parece estar relacionada a citocinas pró-inflamatórias, que são aumentadas nesses indivíduos. Consequentemente, pode causar uma redução na expressão de mRNA da adiponectina e sua secreção pelos adipócitos, segundo Arikoglu et al, 2014. Portanto, é possível que os portadores do genótipo GG tendam a ter um aumento de no IMC, levando à supressão na expressão do RNAm. Essa supressão diminui os níveis plasmáticos de adiponectina, aumentando a suscetibilidade à resistência à insulina, diabetes tipo 2 e condições cardiovasculares em indivíduos obesos, uma vez que a adiponectina atua como fator de proteção às doenças cardiovasculares e aumenta a sensibilidade à insulina através da sua ação anti-inflamatória.

Petrone et al. (2006) demonstraram uma associação entre o genótipo +45 T> G e o modelo genético GG + TG x TT com o aumento dos níveis de glicose em crianças italianas com sobrepeso / obesidade, com média de idade de 10,6 anos. Outros autores também encontraram uma associação entre o SNP +45 T> G com hiperglicemia e diabetes tipo 2 em adultos (Fumeron et al., 2004; Zacharova et al., 2005), sendo observado associações de peso, estatura e IMC para este modelo na população de adolescentes da Região Metropolitana de Vitória, conforme dados da tabela 7.

Petrone et al. (2006) não observaram uma associação entre a glicemia de jejum e o polimorfismo +276 G> T em adolescentes italianos com faixas etárias semelhantes aos adolescentes avaliados neste trabalho. Riestra et al. (2012) também não encontraram associação de +276 G> T SNP com glicemia de jejum em adolescentes espanhóis. Os resultados acima citados não corroboram o resultado obtido neste trabalho, sendo observado que o SNP 276 G> T no modelo genético recessivo para o alelo G (TT + TG x GG) foi associado a maiores níveis de glicemia de jejum ($p = 0,02$) (Tabela 8). Zaki et al. (2014) encontraram resultados semelhantes para este SNP ao estudar crianças egípcias em que os genótipos TT (96,3 mg / dl) e GT (94 mg / dl) estavam associados com maior glicemia de jejum.

O SNP -11377 C>G da região promotora do gene da adiponectina apresentou frequência de CC (66,8%), sendo semelhante à frequência observada em diversos estudos da literatura VASSEUR *et al* (2005) e SCHWARZ *et al* (2006) estando em EHW na amostra estudada. Estudando uma população de suecos, GU *et al.* (2004) observaram que portadores do alelo C para o polimorfismo -11377 C>G apresentavam um índice de massa corporal (IMC) maior que o índice médio das pessoas com o genótipo GG.

Em nosso estudo os SNP -11377 C>G e -11391 G>A não foi associado com nenhuma diferença estatisticamente significativa entre medidas antropométricas e os polimorfismos, resultados similares foram encontrados nas análises desenvolvidas por VASSEUR e MENZAGHI *et al.*(2002). No entanto, diversos outros artigos

relatam associação entre desvios das medidas antropométricas com os alelos -11391 e -11377 ou com seus haplótipos ou com outras variantes do gene APM1.

No nosso estudo análises com os haplótipos foi demonstrado uma tendência entre as associações dos haplótipos da região promotora do gene da ADIPOQ, SNPs -113910 G>A, e -11377C>G para o modelo com excesso de peso e sem excesso de peso com HOMA-IR com correlação para o haplótipo CG.

Petrone et al, estudaram quatro haplótipos estimados para os SNP-11391,-11377 e +45 em crianças italianas com sobrepeso e obesidade e observaram que a presença do alelo G do SNP-11391 G>A era associada a maior resistência à insulina e menores níveis de adiponectina, e a adição do alelo C do SNP-11377 C>G conferia além de maior, maiores níveis plasmáticos de glicose, demonstrando o efeito individual de cada SNP na sua população. Vasseur et al, demonstraram importante associação do haplótipo dos SNPs -11391 e -11377 (GG) da região promotora com maior risco de DM2 em caucasianos obesos mórbido, sugerindo que este haplótipo ou alguma variante funcional próxima em desequilíbrio de ligação levaria a diminuição das concentrações de adiponectina e sensibilidade à insulina.

Os haplótipos da região codificadora +45T>G e +276G>T deram associados com a glicemia em jejum ($p=0,012$). Sendo observado nesta população que haplótipo TG possui maiores concentrações de glicose, enquanto o haplótipo GT foi associado as menores concentrações séricas de glicose, resultado esse que corroboram o estudo de Menzaghi et al (2002), demonstrando na população de caucasianos que o haplótipo definido pelos dois SNPs +45 T>G e +276 G> T do gene da ADIPOQ foi fortemente associado com muitos componentes da síndrome de resistência à insulina com maior peso corporal ($P 0,03$), cintura circunferência ($P 0,004$), sistólica ($P 0,01$) e pressão arterial diastólica ($P 0,003$), glicemia de jejum ($P 0,02$) e insulina ($P 0,005$), homeostase modelo de avaliação (HOMA) para resistência à insulina ($P 0,003$).

7 CONCLUSÕES

Concluimos que polimorfismo e/ou haplótipos TG da região codificadora do gene da ADIPOQ está relacionado com susceptibilidade ao excesso de peso e alterações na homeostase glicêmica em adolescentes matriculados na rede estadual de ensino da Região Metropolitana da Grande Vitória-ES.

Associações dos polimorfismos e haplótipos do gene *ADIPOQ* e os parâmetros antropométricos e bioquímicos, bem como à susceptibilidade ao excesso de peso e alterações na homeostase glicêmica foi encontrada na população estudada, destacando a associação do polimorfismo +45 T>G com maior suscetibilidade para o excesso de peso e alterações com HOMA- β % e para o haplótipo da região codificadora do gene ADIPOQ +45T>G e +276G>T associado com o aumento nos níveis séricos da glicose.

A distribuição das frequências alélicas, genotípicas dos polimorfismos SNPs rs17300539 (11391 G>A); rs 266729 (11377C>G); rs2241766 (45T>G) e rs1501299 (276G>T) do gene ADIPOQ estão em equilíbrio na população estudada, apresentado maior frequência do haplótipo GCGG 272 (38,85%).

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA ESTUDOS DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. São Paulo, 2016, 188p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **POF 2008 2009 – Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no brasil**. 2010

ADYA, Raghu; TAN. B.K.; RANDEVAL, H.S, Differential effects of leptin and adiponectin in endothelial angiogenesis. *Journal of Diabetes Research*, v.2015, ID. 648239, p.1-12, 2014.

ANDRADE, Maria Izabel Siqueira de. et al. Identificação dos pontos de corte do índice Homeostatic Model Assesment for Insulin Resistance em adolescentes: revisão sistemática, *Revista Paulista de Pediatria*, v.346, n. 2, p. 234- 242, 2016.

BORGES, Maria Carolina. Adiponectina: relação com a distribuição de gordura corporal e influência sobre o risco de doenças cardiovasculares. 2016. 271 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CHEI, Wei, et al. Clustering of long-term trends in metabolic syndrome variables from childhood to adulthood in blacks and whites, *American Journal of Epidemiology*, v.166, n.5, p.527-533, 2007.

CHEONG, My-Young; et al. Associations of the adiponectin gene variations with risk of ischemic stroke in a Korea population. *Journal Yonsei Medical*, v.52, n.1, p. 20-25, 2011.

CHUNG, Hye Kyung, et al. Influence and adiponectin gene polymorphisms on adiponectin level and insuline resistance index in response to dietary intervention in overweight-obese patients with impaired fasting glucose or newly diagnosed type 2 diabetes. *American Diabetes Association – Diabetes Care*, v.32, p. 552-558, 2009.

COMUZZIE, A.G. et al. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. *The Journal of Clinical and Endocrinology & Metabolism*, v.89, n.6, p. 4321-4325, 2001.

DASTANI, Zari, et al. The shared allelic architecture of adiponectin levels and coronary artery disease. *Journal Atherosclerosis*, n.229, p.145-148, 2013.

DEITEL, Mervyn. Overweight and obesity worldwide now estimated to involve 1.7 billion people. *Rev. Obesity Surgery*, v.13, p.329-330, 2003.

DEKKER, J.M. et al. Prognostic Value of adiponectin for cardiovascular disease and mortality. *The Journal of Clinical and Endocrinology & Metabolism*, v.93, n.4, p. 1489-1496, 2008.

FARIA, Ana Paula C. de; et al. Adiponectin – 11377 C/G and +276G/T polymorphism affect adiponectin levels but do not modify responsiveness to therapy in resistant hypertension. *Rev. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, v.117, p. 65-72, 2015.

FASSHAUER, Mathias; PASCHKE, Ralf, STUMVOLL, Michael; Adiponectin obesity, and cardiovascular disease. *Journal Biochemie*, v. 86, p. 779 – 784, 2004.

FERRAREZI, D. A. F, et al. Adiponectin gene and cardiovascular risk in type 2 diabetic patients: a review of evidences. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia – Versão online*, v.51, n.2, São Paulo, 2007.

FRIEDMAN, J. M.; LEIBELA, R. L.; BAHARY, N. Molecular mapping of obesity genes. *Journal Mammalian Genome*, v. 1, p. 130-144, 1991.

FUMERON, Frédéric, et al. Adiponectin gene polymorphism and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period, *Rev. Diabetes Research and Clinical Practice*, v.53, p.1150-1157,2004.

HAN, S.H, et al. Adiponectin and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*, v.49, n.5, p. 531-538, 2007.

HARA, Kazuo, et al. Genetic variant in the gene encoding adiponectin is associated with in a increased risk of type 2 diabetes in the japanese population, *Rev. Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 51, p. 536-540, 2002.

HARVEST, F. Gu, et al. Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin (APM1) gene are associated with type 2 diabetes in swedish caucasians, *Rev. Diabetes Research and Clinical Practice*, v.53, n. (suplementar. 1), p. 31-35, 2004.

HORÁKOVÁ, Dagmar, et al. Total and high molecular weight adiponectin levels and prediction of cardiovascular risk in diabetic patients. *Journal International of Endocrinoly – Versão online*, v. 2015, ID 545068, p.1-6, 2015.

JAIN, Vandana; et al. Adiponectin, Interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels in Overweight/obese indian children. *Rev. Indian Pediatrics*, v. 54, p.848-850, 2017.

JUNIOR, Marcelo dos Santos Guimarães; et al. Fator de risco cardiovascular: a obesidade entre crianças e adolescentes nas macrorregiões brasileiras. *Rev.*

Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento, v.12, n.69, p. 132-142, jan-fev/2018.

KADOWAKI, Takashi; et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes and the metabolic syndrome. The Journal of Clinical Investigation, v.116, n.7, p. 1783-1792, jul-2006. The European Journal of Obesity, v.11, p. 116-128, 2018.

KANAYA, A. M, et al. Serum adiponectin and coronary heart disease risk in older black and white americans. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 91, n.12, p. 5044-5050, 2015.

KEUTERMANS, Genoveva; et al. Differential adipokine receptor expression on circulating leukocyte subsets in lean and obese children. Journal Plos One, Disponível em: < <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187068>> Acesso em: 20 de fevereiro de 2018.

KIM, J., et al, Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction. Journal Circulation, v. 113, p. 1888-1904, 2006. Disponível em: < <https://www.ahajournals.org/journal/circ#>> Acesso em: 3 de janeiro de 2018.

KOHL, Ilana. Pesquisa de genes e/ou segmentos cromossômicos em pacientes com obesidade e/ou hiperfagia, atraso do desenvolvimento neuropsicomotor e/ou dificuldades de aprendizado e distúrbios de comportamento. 2010. 65 f. Tese (Doutorado em Biologia/Genética) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

KYRIAKOU, Theodosios; et al. Adiponectin gene ADIPOQ SNP associations with serum adiponectin in two female population and effects of SNPs on promoter activity. Journal of Human Genetics, v.53, n.8, p. 718-727, 2008.

LACQUEMANT, C. et al. The adiponectin gene SNP+45 is associated with coronary artery disease in type 2 (non-insulindependent) diabetes mellitus. Rev. Diabetes UK. Diabetic medicine, v.21, p. 776-781, 2004.

LANKTREE, M. B.; HEGELE R. A. Gene –gene and gene-environment interactions: new insights into the prevention, detection and management of coronary artery disease. Rev. Genome Medicine, Artigo 28, v.1, n.2, p. 1-11, 2009.

LEITE, Lucia Dantas; ROCHA; Érica Dantas de Medeiros; Neto, José Brandão. Obesidade: uma doença inflamatória. Rev. Ciência e Saúde, Porto Alegre, v.2, n.2, p. 85-95, jul-dez/2009.

LU, Guijing, et al. Adiponectin levels are associated with coronary artery disease across caucasian and African American ethnicity, Journal Translation Research v.149, n.6, p. 317-323, 2007.

LUCERO, Diego; et al. Adiponectina determinaría el predominio de VLDL alteradas en el síndrome metabólico. Rev. Acta Bioquímica Clínica Lationamericana, v.50, n.4, p. 575-581, 2016.

MACHERET, Fima, et al. Higher circulating adiponectin levels are associated with increased risk of atrial fibrilations in older adults. Journal Heart v.101, n.1, p. 1368-1374, 2015 – British Cardiovascular Society. Disponível em: < <http://heart.bmj.com/>> Acesso em: 12 de março de 2018.

MAEDA, Kazuhisa, et al. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). Journal Biochemical and Biophysical Research communications, v.221, n.2, p.286-289, 1996.

MATSUZAWA, Yuji. Adiponectin: Identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. Journal Atherosclerosis Supplements, n.6, p.7-14, 2005.

MATTU, H.S.; RANDEVA, H.S. Role of adipokines in cardiovascular disease. Journal of Endocrinology, v.216, n.1, p. 17-36, 2013.

MENDES, Marcelo José Fernandes de Lima, et al. Associação de fatores de risco para doenças cardiovasculares em adolescentes e seus pais. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife, 6 (Suple1) p.49-54, mai/2006.

MENZAGHI, Claudia. et al. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome, Rev. Diabetes Research and Clinical Practice, v.51, p.2306-2312, jul/2002

MENZAGHI, Claudia; TRISCHITTA, Vincenzo; DORIA, Alessandro. Genetic influences of adiponectin on insuline resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. Rev. Diabetes Research and Clinical Practice, v. 56, p. 1198-1209, 2007.

MOLICA, Filippo, et al. Adipokines at the crossroad between obesity and cardiovascular disease. Journal Thrombosis and Haemostasis, v.113, n.3, p.553-566, 2015.

MOTAWI, Tarek, et al. Association of polymorphhism in adiponectin (+45 T/G) and leptin (-2548 G/A) genes with type 2 diabetes mellitus in male Egyptians. Rev. Archives of Medical Science, v.11, n.5, p.937-944, 2015.

NICOLAU, Christiane Yumi Muramoto. Associação das variantes no ADIPOQ e concentrações séricas de adiponectina com alterações metabólicas em crianças e adolescentes obesos. 2008. 171 f. Tese (Doutorado em Ciências) –Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.

OLIVEIRA, C.L; FISBERG, M. Obesidade na infância e na adolescência – uma verdadeira epidemia. Rev. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo, v.47, n.2, p. 107-108, abr/2003.

OLIVEIRA, C.S.V., et al. Association of ADIPOQ variants, total and high molecular weight adiponectin levels with coronary artery disease in diabetic and non-diabetic Brazilian subjects. Journal of Diabetes and its complications, v.26, p.94-98, 2012.

PADMALAYAM, Indira; SUTO, Mark. Role of adiponectin in the metabolic syndrome: Current perspectives on its modulation as a treatment strategy. Rev. Current Pharmaceutical Design, v.19, p.5755-5763, 2013.

PAES, Santiago Tavares; MARINS João Carlos Bouzas; ANDREAZZI, Ana Eliza. Efeitos Metabólicos do exercício físico na obesidade infantil: uma visão atual. Rev. Paulista de Pediatria, v.33, n.1, p.122-129, 2015.

PENG, Yu-Ju; et al. Adiponectin and adiponectin receptor 1 overexpression enhance inflammatory bowel disease. Journal of Biomedical Science, v.25, n.25, p.1-15, 2018.

PETRONE, Antônio, et al. The promoter region of the adiponectin gene is a determinant in modulation of insulin sensitivity in childhood obesity. Journal of Obesity, v.14, p.1498-1504, 2006.

PORTAL, Vera Lucia. et al. Relationship between adiponectin, obesity and insulin resistance, Revista Associação Médica Brasileira, v.61, n.1, p.72-80, 2014

RODRIGO, Carmen Pérez. Current mapping of obesity, Rev. Nutr. Hosp., v.28, suplementar 5, p.21-31, 2013.

SCHERER, Philipp E. Adipose tissue, from lipid storage compartment to endocrine organ. Rev. Diabetes Research and Clinical Practice, v. 55, p. 1537- 1545, jun/2006.

SCHILDKRAUT, J.M., et al. Coronary risk associated with age and sex of parental heart disease in the framingham study. The American Journal of Cardiology, v.64, n.10, p.555-559, 1989.

SEVEN, Ekim; et al. Adipocytokines, C-Reactive protein, and cardiovascular disease: A population-based prospective study. Journal Plos One, Disponível em: < DOI: 10.1371/journal.pone.0128987> Acesso em: 14 de fevereiro de 2018.

SILVA, L.R., et al. Aterosclerose subclínica e marcadores inflamatórios em crianças e adolescentes obesos e não obesos. Rev. Brasileira de Epidemiologia, v.15, n.4, p. 804-816, 2012.

SOUZA, Roberto Claure Arena de. Análise dos polimorfismos -11391 (G>A) e 11377 (C>G) do gene ADM1 da adiponectina na adiposidade humana. 2007. 59 f.

Dissertação (Mestrado em Genética e Toxicologia Aplicada) –Universidade Luterana do Brasil, Canoas.

SRINIVASAN, R. Sathanur; MYERS, Leann; BERENSON, S. Gerard. Predictability of childhood adiposity and insulin for developing insulin resistance syndrome (syndrome X) in Young adulthood. *Rev. Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 51, p.204-209, feb/2002.

STERN, J.H; RUTKOWSKI, J.M; SCHERRER, P.E. Adiponectin, leptin and fatty acids in the maintenance of metabolic homeostasis through adipose tissue crosstalk. *Rev. Cell Metabolism* n. 23, p. 770-784, 2016.

STUMVOLL, Michael; et al. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (Exon 2) with obesity and insulin sensitivity. Interaction with family history of type 2 diabetes. *Rev. Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 51, p.37-41, jan/2002.

STYNE, D.M. Childhood and adolescent obesity. Prevalence and significance. *Rev. Pediatric Clinics of North America*, v.48, n.4, p.823-854, 2001.

SUN, Kaisheng; et al. Recessive protective of ADIPOQ rs1501299 on cardiovascular disease with type 2 diabetes: A meta-analysis. *Journal. Molecular and Cellular Endocrinology*, v.349, p. 162-169, 2012.

VASSEUR, Francis, et al. Single-nucleotide polymorphism haplotype in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in french caucasians. *Oxford University Press*, v.11, n.21, p.2607-2614, 2002.

WITBERG, Guy, et al. Relation of adiponectin to All-Cause mortality, cardiovascular mortality, and major adverse cardiovascular events (from the Dallas Heart Study), *The American Journal of Cardiology*, v.117, p. 574-579, 2016.

YE, Enling; et al. Adiponectin and peroxisome proliferator-activated receptor – gene polymorphism and gene interactions with type 2 diabetes. *Journal Life Sciences*, v.98, p. 55-59, 2014.

YE, Risheng; SCHERRER, P.E. Adiponectin, driver or passenger on the road to insulin sensitivity? *Rev. Molecular and Metabolism*, v.2, p. 133-141, 2013.

**ANEXO 1 - PARACER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (COEP/UFMG)**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Projeto: CAAE – 0301.0.203.000-11

**Interessado(a): Prof. Joel Alves Lamounier
Departamento de Pediatria
Faculdade de Medicina - UFMG**

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 06 de setembro de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado **"Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis de síndrome metabólica"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

**ANEXO 2 PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HOSPITAL
ESTADUAL INFANTIL NOSSA SENHORA DA GLÓRIA DE VITÓRIA – ES
(CEP/HEINSG)**



**GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória**

Vitória, 09 de fevereiro de 2012.

Da: Profa. Dra. Silvia Moreira Trugilho
Coordenadora
Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória

Para: Janine Pereira da Silva
Pesquisador(a) Responsável pelo Projeto de Pesquisa intitulado: **"Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis de síndrome metabólica"**

Senhor(a) pesquisador(a)

Informamos a Vossa Senhoria, que o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Nossa da Glória, após analisar o Projeto de Pesquisa, nº de Registro no CEP-41/2012, intitulado: **"Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis de síndrome metabólica"**, cumprindo os procedimentos internos desta instituição, bem como as exigências das Resoluções 196 de 10.10.96, 251 de 07.08.97 e 08292 de 08.07.99, **APROVOU** o referido projeto, em Reunião Ordinária realizada em 07 de fevereiro de 2012.

Gostaríamos de lembrar que cabe ao pesquisador **ELABORAR E APRESENTAR OS RELATÓRIOS PARCIAIS E FINAIS** de acordo com a resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196 de 10/10/96, inciso IX, 2, letra "c".


Profa. Dra. Silvia Moreira Trugilho
Coordenadora do CEP-HINSG/SESA

ANEXO 3 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA OS ADOLESCENTES E SEUS PAIS E/OU REPRESENTANTES LEGAIS

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Adolescentes e seus Pais ou Responsáveis

Ao responsável pelo menor: _____

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada “Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis da síndrome metabólica”. O estudo coordenado pelos pesquisadores Joel Alves Lamounier, Valmin Ramos da Silva, Janine Pereira da Silva e Patricia Casagrande Dias de Almeida, pretende avaliar o número de adolescentes (10 a 14 anos) com sobrepeso e obesidade e os riscos associados à obesidade. A sua participação consiste em permitir que o seu filho seja pesado, medido, aferida a pressão arterial, coletado 10 mL de sangue em um dos braços e coletada a saliva. Além disso, ele responderá a um questionário contendo perguntas referentes à idade, sexo, dados de doenças (individual e familiar), dados sobre a renda familiar, condições de moradia e prática de atividade física e consumo alimentar. O seu filho também deverá ingerir 10 mL de um líquido chamado de “água pesada”, que será eliminado na saliva e servirá para indicar a quantidade de gordura existente em seu corpo.

O estudo é muito importante porque vai indicar o número de adolescentes obesos e com possíveis complicações como alteração da pressão arterial, glicose, colesterol, triglicérides e outras. Estas informações serão úteis não somente para o seu filho, mas também para orientar os governantes no planejamento da saúde em nosso Estado.

A sua participação é muito importante, mas caso você decida não participar, seu filho não perderá nenhum dos seus direitos na escola. As informações obtidas serão mantidas em sigilo, e a divulgação dos resultados será feita de modo a nunca identificá-lo. Você não pagará e não receberá nenhum recurso financeiro para participar da pesquisa. As dúvidas ou esclarecimentos serão prestados pelos pesquisadores (27-99363613) ou pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória de Vitória – ES (27-33255546).

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Depois de ter lido e entendido este documento, cuja cópia está em meu poder, **CONCORDO** que o menor acima identificado participe da pesquisa.

Assinatura do Responsável: _____ Data: _____

Assinatura do Menor: _____ Data: _____

Assinatura (Pesquisador): _____ Data: _____

Coordenador da Pesquisa: Valmin Ramos da Silva - Av. N. Sra da Penha 2190. Santa Luzia – Vitória/ES. CEP: 29045-402/ Telefone: 27-33455491

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória – Vitória/ES: Alameda Mary Ubirajara, 205, Santa Lúcia, Vitória-ES. CEP: 29055-120 / Telefone: 27-33255546.

ANEXO 4 CARTA DE ANUÊNCIA PARA DIRETORES DE ESCOLAS PÚBLICAS ESTADUAIS DA REGIÃO METROPOLITANA DA GRANDE VITÓRIA (ES).



EMESCAM
Tradição e Conhecimento em Saúde

Vitória, _____ de _____ de _____

Prezado (a) Diretor (a),

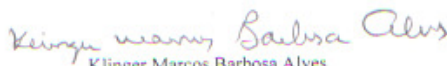
Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa intitulada **“Prevalência de sobrepeso e obesidade em adolescentes no Estado do Espírito Santo e sua associação com algumas variáveis da síndrome metabólica”**. O estudo coordenado pelos pesquisadores Joel Alves Lamounier (MG), Valmin Ramos da Silva (ES) e Janine Pereira da Silva (ES), pretende avaliar o número de adolescentes (10 a 14 anos) com sobrepeso e obesidade e os riscos associados à obesidade.

O estudo é muito importante porque vai indicar o número de adolescentes obesos e com possíveis complicações como alteração da pressão arterial, glicose, colesterol, triglicérides e outras. Estas informações serão úteis não somente para os adolescentes avaliados, mas também para orientar os governantes no planejamento da saúde em nosso Estado.

A sua participação consiste em permitir que os adolescentes matriculados nesta instituição de ensino, após assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelos adolescentes e seus pais ou representantes legais, sejam pesados, medidos, aferida a pressão arterial, coletado 10 mL de sangue em um dos braços e coletada a saliva. Além disso, o adolescente responderá a um questionário contendo perguntas referentes à idade, sexo, dados de doenças (individual e familiar), dados sobre a renda familiar, condições de moradia e prática de atividade física e consumo alimentar. O estudante também deverá ingerir 10 mL de um líquido chamado de “água pesada”, que será eliminado na saliva e servirá para indicar a quantidade de gordura existente em seu corpo.

As informações obtidas serão mantidas em sigilo, e a divulgação dos resultados será feita de modo a nunca identificar esta instituição de ensino e os participantes do estudo. As dúvidas ou esclarecimentos serão prestados pelos pesquisadores (27-99363613) ou pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Nossa Senhora da Glória de Vitória – ES (27-33255546). Sua participação é muito importante, e por isso solicitamos sua autorização para realização da pesquisa nesta instituição. Agradecemos por sua atenção e colaboração.


Prof. Dr. Valmin Ramos da Silva
Coordenador da Pesquisa
Valmin Ramos da Silva
Coordenador do Curso de Medicina
CRM-ES 3888
EMESCAM


Klinger Marcos Barbosa Alves
Secretário Estadual de Educação do Espírito Santo

AO DIRETOR DA ESCOLA

Diante do exposto, EU, _____, Diretor (a) da Escola _____, afirmo receber e compreender as informações esclarecidas e permito que esta pesquisa seja realizada nesta instituição de ensino.

Av. N. S. da Penha, 2190
Santa Luiza - Vitória
ES - Brasil - CEP 29045-402

EMESCAM
Escola Superior de Ciências da Santa Casa
de Misericórdia de Vitória

Tel.: +55 27 3334 3500
info@emescam.br
www.emescam.br

ANEXO 5 FORMULÁRIO PADRONIZADO PARA COLETA DOS DADOS DA PESQUISA

FORMULÁRIO PARA COLETA DE DADOS

CODE:

REC:

EEEFM:	Série:
Data da Coleta: / /	

Nome do Adolescente:	
Nome do Responsável:	
Telefone de Contato:	
Endereço:	
Data de Nascimento: / /	Idade: _____ anos e _____ meses
Sexo: () F= Feminino M= Masculino	
Raça/Cor (Etnia): () Branca-1 () Preta-2 () Parda-3 () Amarela-4 () Indígena-5	

AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA E CLÍNICA

Estatura (cm):	Peso (kg):	Percentil/Classificação CB:
IMC (kg/m²):		Circunferência do Pescoço (cm):
z-score/Percentil IMC/I:		Percentil/Classificação CP:
z-score/Percentil E/I:		%Gordura Corporal*:
Circunferência da Cintura (cm):		Classificação %GC:
Percentil/Classificação CC:		%Água Corporal*:
Circunferência do Braço (cm):		Classificação AC*:
		Peso ao nascer (g):

*Gordura Corporal e Água Corporal por Bioimpedância Elétrica Marca Tanita UM061

Variável	1	2	3	Valor Médio	Percentil/Classificação
DCT* (mm)					
DCSE** (mm)					
DCT* + DCSE** (mm)					
PA Sistólica (mm/Hg)					
PA Diastólica (mm/Hg)					

*DCT: Dobra Cutânea Tricipital; **DCSE: Dobra Cutânea Subescapular

Estadiamento Puberal (Sexo Masculino)	
Volume Testicular (G)	Pelos Pubianos (P)
() G1 () G2 () G3 () G4 () G5	() P1 () P2 () P3 () P4 () P5
Estadiamento Puberal (Sexo Feminino)	
Mamas (M)	Pelos Pubianos (P)
() M1 () M2 () M3 () M4 () M5	() P1 () P2 () P3 () P4 () P5
Menarca: () Sim () Não	Data Menarca (ano):

ANEXO 6 FORMULÁRIO PADRONIZADO PARA COLETA DOS DADOS DA PESQUISA

DADOS SOBRE CONSUMO ALIMENTAR								
Alimentos	Frequência de Consumo							Subtotal (*)
	Por Dia			Por Semana			Nunca ou Quase Nunca	
	1 vez	2 vezes	3 ou + vezes	1 a 2 vezes	3 a 4 vezes	5 a 6 vezes		
Batata frita ou chips (100g)	48	96	144	10	24	38	0	
Bife ou carne assada (médio=100g)	50	100	150	11	25	39	0	
Biscoitos (50g)	21	42	63	9	21	33	0	
Bolo ou torta (1 fatia= 60 g)	16	32	48	3	6	13	0	
Leite Integral (1 copo=200 mL)	24	48	72	5	12	19	0	
Hambúrguer (1 unidade=100 g)	25	50	75	5	12	20	0	
Queijo (1 fatia=50g)	10	20	30	2	5	7	0	
Manteiga ou margarina (1c. sob=10g)	2	4	6	0,5	1	1,5	0	
Linguiça ou salsicha (1 unidade=80g)	4	8	12	1	2	3	0	
TOTAL =								

* Colher de sobremesa; (*) Marque na coluna subtotal o número que corresponde à frequência de seu consumo. Some a coluna de subtotal e confira com o total abaixo: Total: < 100 = consumo adequado; entre 101 e 119 = consumo elevado; > 120 = consumo excessivo.

DADOS SOBRE ATIVIDADE FÍSICA E OUTROS	
Recreação/Tempo Diário (horas): Televisão: _____ h Computador: _____ h Videogame: _____ h	
Realiza Atividade Física: (☒) Sim (☐) Não	Tipo de Atividade Física:
Frequência:	Duração (minutos):
Fuma: (☒) Sim (☐) Não	Frequência: (☒) diária (☐) semanal (☐) mensal
Bebe: (☒) Sim (☐) Não	Frequência: (☒) diária (☐) semanal (☐) mensal

DADOS SOCIOECONÔMICOS						
Posse de Itens						
Posse de Itens	NÃO TEM	TEM (Quantidade)				Subtotal (*)
		1	2	3	4 ou +	
Televisores em cores	0	1	2	3	4	
Videocassete/DVD	0	2	2	2	2	
Rádios (NÃO considerar rádio do veículo)	0	1	2	3	4	
Banheiros (NÃO considerar banheiros coletivos)	0	4	3	6	1	
Automóveis	0	4	7	9	9	
Empregadas mensalistas**	0	3	4	4	4	
Máquina de lavar (NÃO considerar tanquinho)	0	2	2	2	2	
Geladeira	0	4	4	4	4	
Freezer***	0	4	4	4	4	
TOTAL ₁ :						
Grau de Instrução do Chefe de Família****						
Grau de Instrução	Pontos	Subtotal (*)				
Analfabeto/Primário Incompleto (até 3ª Série Fundamental)	0					
Primário completo (até 4ª Série Fundamental)	1					
Ginásial completo/Fundamental completo	2					
Colegial completo/Médio completo	4					
Superior completo	8					
TOTAL ₂ :						

*NÃO considerar veículos usados para fins profissionais; **Incluir bebê, motorista, cozinheira, arrumadeira que trabalhe 4 dias/semana; ***Independente ou 2ª porta da geladeira; **** Pessoa que toma as decisões mais importantes da casa ou que mais contribui com a renda familiar; (*) Marque na coluna subtotal o número que corresponde ao item avaliado. Some a coluna de Subtotal e confira com os pontos de corte das classes (Critério Padrão de Classificação Econômica Brasil 2005).