



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA



**TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL DO ADOLESCENTE OBESO: EFEITO
NOS MARCADORES DA INFLAMAÇÃO E DO ESTRESSE OXIDATIVO**

Aluno: João Elias Dias Nunes

Orientador: Nadia Carla Cheik

Co-Orientador: Foued Salmen Espindola

**UBERLÂNDIA - MG
2014**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA



**TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL DO ADOLESCENTE OBESO: EFEITO
NOS MARCADORES DA INFLAMAÇÃO E DO ESTRESSE OXIDATIVO**

Aluno: João Elias Dias Nunes

Orientador: Nadia Carla Cheik

Co-Orientador: Foued Salmen Espindola

**Tese apresentada à Universidade
Federal de Uberlândia como
parte dos requisitos para
obtenção do Título de Doutor em
Genética e Bioquímica (Área
Bioquímica)**

**UBERLÂNDIA - MG
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

N972t
2015

Nunes, João Elias Dias,
Tratamento multiprofissional do adolescente obeso: efeito nos
marcadores da inflamação e do estresse oxidativo / João Elias Dias
Nunes. - 2015.
111 f. : il.

Orientador: Nadia Carla Cheik.

Coorientador: Foued Salmen Espindola.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica.

Inclui bibliografia.

1. Bioquímica - Teses. 2. Obesidade na adolescência - Teses. 3.
Stress oxidativo – Teses. I. Cheik, Nadia Carla. II. Espindola, Foued
Salmen. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Genética e Bioquímica. IV. Título.

CDU: 577.1



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA



**TRATAMENTO MULTIPROFISSIONAL DO ADOLESCENTE OBESO: EFEITO
NOS MARCADORES DA INFLAMAÇÃO E DO ESTRESSE OXIDATIVO**

ALUNO: JOÃO ELIAS DIAS NUNES

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: NADIA CARLA CHEIK (Orientadora)

Examinadores: Ana Raimunda Dâmaso
Lila Missae Oyama
Cibele Aparecida Crispim
Guilherme Morais Puga

Data da Defesa: 30/04/2015

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas

NADIA CARLA CHEIK



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que tiveram a valente decisão de ter filhos e educá-los para serem cidadãos do bem. Eles me oportunizaram a grande experiência da vida e me permitiram vivê-la, com alegrias e com tristezas, com vitórias e com derrotas, com luta. Nessa luta aprendi, e tenho aprendido que a gratidão é um sentimento inefável, que engrandece e estimula a vida. Obrigado Pai e Mãe, nada do que eu escrever será suficiente para agradecer essa grande oportunidade que me deram.

Dedico também este trabalho a minha família. Sara, Sofia e Otávio, vocês são como o céu, alguns dias nublados, alguns dias ensolarados, alguns dias secos, alguns dias chuvosos. Se em qualquer momento paro e olho para cima, sinto o quanto vocês são a bela expressão do pensamento Criador. A vocês dedico a minha vida na certeza de que toda minha doação é um bem que faço a mim mesmo, pois vocês são parte de mim.



AGRADECIMENTOS

Estas palavras são a tentativa de expressão do que vivi do ano de 2010 até agora. Elas ofuscadamente representam o grande sentimento de gratidão que tenho em meu interno por todos aqueles que fizeram parte de alguma forma desta conquista.

Agradeço especialmente a dois seres que, além de indispensáveis na execução deste trabalho, tornaram-se amigos ao longo desta caminhada, amigos no sentido mais elevado da palavra.

Primeiramente a minha querida orientadora, Profa. Dra. Nadia Carla Cheik, por ter assumido com valentia a responsabilidade desta orientação em um programa de pós-graduação em Bioquímica. Por não ter me abandonado nem durante o momento mais nobre na vida de uma mulher, a maternidade. Por ter sido um exemplo de como é possível ser orientador sem desorientar, puxando-me quando necessário e dando-me autonomia nos momentos adequados, sempre com muita educação e elegância. Por ser também um exemplo de pesquisadora, ética, moral e profissionalmente. Obrigado Nadia, sinto-me honrado em tê-la como colega de trabalho e amiga.

Um agradecimento especial também ao meu parceiro inseparável na lida com este trabalho, Heitor Santos Cunha, grande “Cabron”. Obrigado por compartilhar comigo todos os momentos, desde o recrutamento do primeiro voluntário até as intermináveis análises sanguíneas. Aprendi muito com você, sua

modéstia, humildade e simplicidade fizeram momentos difíceis tornarem-se mais leves e menos penosos. Tenho certeza que a amizade que construímos durante este período perdurará por muitos e muitos anos.

A vocês: Zulmária (Nutricionista e Treinadora); Sandra (Endocrinologista); Renatinha (Psicóloga); Ana Maria (Pediatra); Juliana (Nutricionista); Renata (Técnica do Laboratório de Bioquímica); Maria Carolina (Mestranda em Bioquímica); Erickson Kima (Mestrando); Nathalie (Treinadora); Bruno (Treinador); Janaína (Treinadora); Álisson (Treinador); Álisson Gonçalves (Treinador); Daiane (Treinadora); Bárbara (Treinadora); Beatriz (Treinadora); Jaqueline (Treinadora); que colaboraram para dar vida a este projeto meus sinceros agradecimentos, vocês fazem parte da minha trajetória. Estejam certos que me recordo sempre de vocês com gratidão por seus esforços.

Não poderia deixar de agradecer ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do Exercício, em nome do Prof. Dr. Foued Salmen Espindola, que proporcionou os meios para que pudessemos desenvolver as análises bioquímicas que propomos.

Agradeço também a Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Uberlândia, por ter me liberado para cursar esse doutorado e ter cedido espaço físico para o treinamento dos voluntários desta pesquisa. Espero poder retribuir com esforço e dedicação esta oportunidade.

A Universidade Federal de Uberlândia, meus nobres agradecimentos, por ser meu local de trabalho e ter me proporcionado qualificar-me em um dos seus cursos de Pós-Graduação.



LISTA DE SIGLAS

- OH: radical hidroxila.
4-HNE: 4 hidroxinenal.
8-epi PGF_{2α}: um isoprostano específico.
AGL: ácido graxo livre.
CuZn SOD: isoforma cobre zinco da SOD.
ERN: espécies reativas de nitrogênio.
ERO: espécies reativas de oxigênio.
FRAP: potencial antioxidante redutor do ferro
GPx: glutathiona peroxidase.
H₂O₂: hidroperóxido.
HDL: lipoproteína de alta densidade.
HIF-1α: fator induzível por hipóxia um alfa.
IL-1: interleucina um.
IL-18: interleucina 18.
IL-6: interleucina seis.
IL-8: inteleucina oito.
IMC: índice de massa corporal.
iNOS: óxido nítrico sintetase induzível.
IP-10: proteína inflamatória dez.
LDL: lipoproteína de baixa densidade.
MCP-1: proteína quimiotática de monócitos um.
MDA: malondialdeido.
MIF1: fator inibitório de migração do macrófago um.
MMP2: metalopeptidase matrix dois.
MMP9: metalopeptidase matrix nove.

mRNA: ácido ribonucléico mensageiro
NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NEFA: ácido graxo não-esterificado.
NF- κ B: fator nuclear κ B.
NO: óxido nítrico.
O₂^{•-}: superóxido.
ONOO[•]: radical peroxinitrito.
PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio.
PCR: proteína C reativa.
PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas.
PEROX: hidroperóxido lipídicos.
PON-1: paranoxase um.
SOD: superóxido dismutase.
TAB: tecido adiposo branco.
SAT: status antioxidante total.
TAS: tecido adiposo subcutâneo.
TAV: tecido adiposo visceral.
TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.
TGF- β : fator de crescimento transformador β .
TNF- α : fator de necrose tumoral alfa.
VEGF: fator de crescimento vascular endotelial.
VLDL: lipoproteínas de baixíssima densidade.



SUMÁRIO

Resumo	12
Abstract	14
Apresentação	16
Capítulo 1 – Fundamentação Teórica	20
1.1 História e panorama atual da obesidade.....	21
1.2 Obesidade e inflamação.....	24
1.3 Obesidade e estresse oxidativo	32
1.4 Interconexão entre estresse oxidativo, inflamação e obesidade	49
1.5 Tratamento multiprofissional da obesidade.....	51
1.6 Referências bibliográficas	53333
Capítulo 2 – Interdisciplinary therapy changes superoxide dismutase activity and adiponectin in obese adolescents: a randomized trial	72
Abstract.....	74
Introduction	75
Methods	76
Results	80
Discussion.....	81
References.....	86
Table 1	93
Table 2.....	94
Capítulo 3 – Velocity associated with maximum oxygen consumption: correlation with C-reactive protein and usefulness for prescription in obese adolescents	95
Abstract.....	97
Implications and contribution.....	98

Introduction	98
Methods	99
Results	101
Discussion.....	102
References.....	104
Tables	108
Figure.....	111

Resumo

A população com obesidade tem crescido no Brasil nas últimas décadas, incluindo adolescentes. Dentre as estratégias mais bem sucedidas para seu tratamento está a intervenção multiprofissional. Desse modo, o objetivo desta tese foi buscar compreender os efeitos do tratamento multiprofissional nos marcadores de inflamação e estresse oxidativo em adolescentes obesos. Foram selecionados adolescentes obesos para a participação em um tratamento multiprofissional que contou com a atuação de médicos, nutricionistas, fisioterapeutas, psicólogos e educadores físicos. O programa teve uma duração de 10 meses e foram avaliados, além de parâmetros antropométricos e de desempenho físico, os marcadores de inflamação e estresse oxidativo. Foram produzidos, com a coleta de dados, dois estudos. O primeiro um estudo longitudinal, onde foram observadas melhoras nos parâmetros inflamatórios e redução do estresse oxidativo com o tratamento multiprofissional, além de redução nos parâmetros antropométricos relacionados a obesidade. Um outro estudo transversal, identificou a associação entre o estado inflamatório e condicionamento cardiorrespiratório de adolescentes obesos, indicando que uma boa capacidade cardiorrespiratória reduz, independentemente do nível de obesidade, as consequências provocadas pela inflamação crônica. Esses dois estudos podem ser lidos em detalhes nos capítulos desta tese. De maneira geral, concluímos que o tratamento multiprofissional é capaz de promover mudanças positivas nos marcadores de inflamação e estresse oxidativo em adolescentes obesos.

Palavras-chave: obesidade, tratamento multiprofissional, inflamação e estresse oxidativo.

Abstract

The population with obesity has grown in Brazil in the last few decades, including adolescents. Among the most successful strategies for its treatment is multidisciplinary intervention. Thus, the objective of this thesis was to try and understand the effects of multidisciplinary treatment on markers of inflammation and oxidative stress in obese adolescents. Were selected obese adolescents to participate in a multidisciplinary treatment which was attended by doctors, nutritionists, physiotherapists, psychologists and physical educators. The program has a duration of 10 months and were evaluated, in addition to anthropometric parameters and physical performance, the markers of inflammation and oxidative stress. Were produced, with the data collection, two studies. The first a longitudinal study, where were observed improvements in inflammatory parameters and reduction of oxidative stress with the multidisciplinary treatment, in addition to a reduction in the anthropometric parameters related to obesity. The second, a cross-sectional study has identified the association between inflammatory state and cardiorespiratory fitness in obese adolescents, indicating that a good cardiorespiratory capacity reduces, regardless of the level of obesity, the consequences caused by chronic inflammation. These two studies can be read in detail in the chapters of this thesis. In general, we conclude that the multiprofessional treatment is able to promote positive changes in markers of inflammation and oxidative stress in obese adolescents.

Keywords: obesity, multidisciplinary treatment, inflammation and oxidative stress.

Apresentação

A obesidade tem sido o foco de uma grande diversidade de estudos científicos pelo mundo, todos em busca de colaborar para a compreensão deste fenômeno crescente. Sua etiologia, suas consequências e as formas de tratamento são minuciosamente investigadas e divulgadas nos meios de comunicação científica e de massa. Entretanto, o avanço da prevalência de excesso de massa gorda em adultos, e principalmente em crianças e adolescentes, tem crescido nos últimos 20 anos.

Esse aparente paradoxo, evidencia que, apesar do grande acúmulo de conhecimento que a ciência produziu e continua produzindo, especificamente nesta área, este, ainda é insuficiente para controlar a expansão desta doença. A causa multifatorial que a obesidade apresenta, pode ser uma das possíveis explicações para esta dificuldade. Outro fator preponderante para o sucesso do tratamento é o indivíduo, sem a sua participação efetiva nas intervenções que se tem a disposição, remediar tamanho problema torna-se uma tarefa impossível para os meios que dispomos atualmente. Por tal razão, novos estudos precisam continuar sendo desenvolvidos, até que se formem entendimentos mais consistentes, a fim de se produzir um direcionamento mais efetivo para o controle da obesidade na população mundial.

Estudos indicam que indivíduos com obesidade ou sobrepeso na infância e/ou adolescência possuem maiores chances de se tornarem adultos obesos. Como a adolescência é uma fase de mudanças físicas, psicológicas e sociais importantes, onde o ser humano busca firmar atitudes e comportamentos, que muitas vezes, são levados para a fase adulta, ela representa uma etapa propícia para o tratamento da obesidade, visto que, pode-se aproveitar o momento de transformação para ensinar e incorporar novos hábitos de vida.

Como já dito anteriormente, a obesidade possui causas variadas, podendo ser fruto, predominantemente, de maus hábitos alimentares, sedentarismo, alterações genéticas e fatores psicológicos. Essas causas podem ser encontradas isoladas, porém, de maneira geral, elas se encontram combinadas nos adolescentes obesos. Esse quadro torna ineficaz a adoção de intervenções isoladas, que buscam tratar apenas uma das causas, desconsiderando as demais, por exemplo, uma dieta ou um programa de treinamento físico. Essa

característica multifatorial, também contribui para o fracasso na tentativa de emagrecimento sem auxílio profissional, pois é comum, que indivíduos que desejam emagrecer por conta própria se utilizem dos métodos ditos “da moda”. Porém, estes possuem o enfoque isolado, podendo até, em alguns casos auxiliar em um dos aspectos da obesidade, contudo, não trata os outros fatores, tornando-se assim incapazes de promoverem a saúde.

A partir desta observação, e com fundamento em informações científicas de qualidade, optou-se pelo oferecimento de um tratamento, para adolescentes obesos, que fosse multiprofissional, e que assim, pudesse enfrentar as principais causas da obesidade. Foi oportunizado para os adolescentes obesos, um trabalho de reeducação alimentar com nutricionistas, terapia em grupo com psicólogos, treinamento personalizado com professores de educação física e acompanhamento do estado geral de saúde com endocrinologista e pediatra. Esse trabalho foi desenvolvido na cidade de Uberlândia, por uma iniciativa da Faculdade de Educação Física da Universidade Federal de Uberlândia.

Juntamente com acompanhamento do quadro clínico, dos adolescentes obesos, a observação do quadro metabólico também tem se mostrado importante. Bioquimicamente, parte do que se tem demonstrado, através da literatura científica, é que sujeitos obesos, independentemente da causa, apresentam cronicamente um estado de inflamação de baixo grau e de estresse oxidativo. Existem divergências sobre qual desses dois fatores é causa ou efeito, entretanto, é grande o corpo de evidências científicas que indicam que esses fatores estão associados ao desenvolvimento das comorbidades e da consequente morte prematura em indivíduos obesos.

Desta forma, intervenções que promovam ganhos a saúde devem consequentemente reduzir o estado inflamatório e o desequilíbrio redox nessa população. Neste sentido, buscou-se identificar, em adolescentes obesos, se uma intervenção multiprofissional seria capaz de promover alterações nos marcadores de inflamação e estresse oxidativo.

A fim de apresentar uma base teórica para o estudo da inflamação e do estresse oxidativo no fenômeno obesidade, descreve-se abaixo a história do desenvolvimento da obesidade e seu panorama epidemiológico atual. Em seguida há a apresentação da associação entre a obesidade e as respostas inflamatórias

e a associação entre obesidade e estresse oxidativo, finalizando com uma breve descrição das vantagens do tratamento multidisciplinar do obeso. Posteriormente, são apresentados os dois artigos científicos que resultaram deste grande estudo experimental. O primeiro apresenta as alterações promovidas por seis meses de tratamento em variáveis do estresse oxidativo, da inflamação e do estado geral de saúde. O segundo evidencia uma importante associação entre a capacidade cardiorrespiratória e o estado inflamatório.

Capítulo 1

Fundamentação Teórica

1.1 HISTÓRIA E PANORAMA ATUAL DA OBESIDADE

Apesar de não ser o foco principal desta tese, para se compreender mais amplamente o complexo panorama da humanidade em relação ao excesso de gordura corporal, deve-se conhecer a origem histórica da obesidade e como ela foi se desenvolvendo ao longo do tempo.

Inicialmente, na história evolucionária da humanidade, a gordura corporal parece ter servido aos objetivos da natureza, equipando a espécie com um mecanismo para estoque das próprias reservas de alimento. Durante os tempos pré-históricos, quando o fardo de doença era a peste e a fome, a seleção natural recompensou os genótipos mais “econômicos”, daqueles que podiam estocar grande quantidade de gordura a partir da menor disponibilidade de alimento e liberá-la frugalmente em longo prazo. Essa habilidade de estocar gordura em excesso com uma menor ingestão alimentar fez a diferença entre viver e morrer, não somente para o indivíduo, mas também para espécie. Aqueles que podiam estocar gordura facilmente tinham uma vantagem evolucionária como caçadores e coletores no inóspito ambiente em que vivia a humanidade em seus primórdios (NESSE, 1996; FLYNN, 1998; EKNOYAN, 2006).

Posteriormente, a descoberta da agricultura e a domesticação dos animais, cerca de 10.000 anos atrás, gradualmente reduziu o suprimento precário de alimento, imposto até então, pela caça e pela coleta. No entanto, do mesmo modo que a nova sociedade de agricultores e pastores melhorou o controle sobre a produção de alimentos, a alimentação permanecia escassa e sujeita as alternâncias da natureza. Como documentado pelo prêmio Nobel em economia de 1993, Robert William Fogel: “durante a maior parte da história humana a desnutrição crônica tem sido uma norma”. Somente depois dos avanços tecnológicos do século XVIII que houve um gradual aumento na oferta de alimentos disponíveis, entretanto, a desnutrição em massa permaneceu até as primeiras décadas do século XX. Fogel, assim propôs que, a consequente redução da atividade física em busca do alimento, associado a abundância e fácil acesso à comida, respondem pelo aumentado número de pessoas com

obesidade e sobrepeso desde a Segunda Guerra Mundial (SIDNEY BURWELL et al., 1956).

Obviamente a patogênese da obesidade é mais complexa do que um simples paradigma de disponibilidade de alimento e o esforço para obtê-lo. Entretanto, por mais que os fatores genéticos e patofisiológicos possam influenciar, em última análise, o desequilíbrio entre ingestão e gasto energético, indicado de outra forma como disponibilidade de alimentos de alto valor calórico e reduzida atividade física para obtê-los, respondem aparentemente pela atual epidemia de obesidade (EKNOYAN, 2006).

Além da origem do excesso de peso é relevante também conhecer como se iniciou a conjecturar que essa característica era maléfica a saúde, pois já houve um tempo em que ser gordo era sinônimo de beleza, bem estar físico, riqueza e poder, como bem documentado pelos fatos culturais anteriores a decadência do império romano.

O termo “obesidade” não apareceu na linguagem Inglesa até o século XVII, e era somente descrito como gordura excessiva ou corpulência (FOGEL, 2004). As características da obesidade começaram a aparecer na literatura médica no século XVIII. Willian Cullen (1710-1790) listou a fadiga, gota e dificuldades respiratórias em sujeitos de muita “carne” (OSLER, 1978).

Já no século XIX tornar-se grandemente gordo era considerado moralmente repreensível e clinicamente indesejado. William Osler, em seu livro, publicado em 1905, atribuiu a obesidade ao excesso de ingestão de alimentos. Segundo ele: “um vício um pouco mais prevalente do que beber em excesso e seus desastrosos efeitos” (DUBLIN e LOTKA, 1937).

Somente na metade do século XIX ela foi reconhecida como doença. O primeiro alarme contra o excesso de peso foi emitido pela indústria de seguros. Estudos atuariais associaram o excesso de peso ao aumento da mortalidade (NESSE, 1996; FLYNN, 1998; GLADWELL, 1998). Já na década de 30 houve uma reviravolta e os médicos consideraram aceitar o excesso de peso como um problema de saúde. Na década de 60 os estudos sobre a obesidade iniciaram de fato, e rapidamente o tecido adiposo foi reconhecido como um órgão, com seus próprios hormônios, receptores e genética, deixando de ser simplesmente um armazenador de gordura, como era entendido até então (WOOD, 2006).

O aumento exponencial e alarmante no número de obesos nos últimos 60 anos levou a Organização Mundial de Saúde, em 1985, declará-la como uma epidemia global e uma crise de saúde-pública mundial, caracterizando-a como uma doença provocada pelo excesso de tecido adiposo (BYNUM, 1987; GUERRINI, 2000).

Atualmente, esta doença constitui um sério problema de saúde pública, pois alcança proporções epidemiológicas em adultos e a prevalência de crianças e adolescentes vem aumentando assustadoramente. Além disto, a susceptibilidade ao desenvolvimento de outras doenças crônicas degenerativas está aumentada e a qualidade de vida diminuída (WEISS e KAUFMAN, 2008).

Hodiernamente estima-se que existam 100 milhões de obesos no mundo. Nos Estados Unidos entre 60 e 65% da população tem sobrepeso ($IMC \geq 25,0 \text{ kg/m}^2$), e 21% é obesa ($IMC \geq 30,0 \text{ kg/m}^2$) (MOKDAD et al., 2003). No Brasil, a obesidade é considerada um dos mais importantes problemas de saúde pública nacional (ABRANTES et al., 2003). No último levantamento nacional, observou-se que 50,1% dos homens e 48% das mulheres apresentam sobrepeso, sendo que 12,4% dos homens e 8% das mulheres são obesos (POF 2008-2009).

Seguindo o mesmo quadro, a obesidade juvenil tem aumentado sua prevalência de forma acentuada nas últimas décadas. Nos EUA entre 1965 a 1995, esta aumentou 106% em meninas de 6 a 11 anos; 69% em meninas de 12 a 17 anos; 108% em meninos de 6 a 11 anos e 148% em meninos de 12 a 17 anos (BAR-OR, 2003). Este aumento ocorreu também nos países em desenvolvimento onde a desnutrição costumava ser prevalente, inclusive no Brasil (FERNANDES et al., 2000; SEIDELL, 1999; STELLA et al., 2003). Neste a prevalência de excesso de peso na população adolescente (10-19 anos), passou de 3,7% em 1974-1975 para 21,7% em 2008-2009 para meninos, já para meninas estes índices foram de 7,6% 1974-1975 para 19,4% em 2008-2009 (POF 2008-2009).

Essa preocupante estatística torna os adolescentes propensos ao desenvolvimento de numerosas doenças associadas ao excesso de gordura, como complicações gastrointestinais, pulmonares, ortopédicas e metabólicas. Somando-se as desordens fisiológicas, essa população ainda se depara com a carga psicológica, ocasionando depressão e baixa autoestima.

De modo geral compreende-se que a obesidade é uma doença que se desenvolveu na população a longa data, porém sem alarde. Recentemente, com o desvendamento de seus prejuízos e com a divulgação de dados epidemiológicos, pode-se notar a amplitude de sua influência na humanidade, o que estimulou a produção de muitos estudos científicos com intento de controlá-la, os quais até então, não conseguiram estabelecer de forma consistente e segura uma forma de ao menos deter seu avanço.

1.2 OBESIDADE E INFLAMAÇÃO

Durante as duas últimas décadas tem se tornado evidente que os mecanismos inflamatórios são importantes chaves no processo patológico de algumas doenças, dentre elas a obesidade.

A resposta inflamatória, dentre outros fatores, se dá por mediação de citocinas, que são proteínas pleitrópicas que podem ser potencialmente produzidas por todas as células (TILG, 2001). O termo inflamação sistêmica de baixo grau identifica a condição caracterizada pelo aumento na circulação desses mediadores da inflamação em resposta a um estímulo nocivo. Dentre esses se incluem moléculas clássicas como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina um (IL-1), a interleucina seis (IL-6) e a proteína C reativa (PCR), bem como, moléculas que se originam da hiperneutrofilia (REPACE; GAMBERINI; PASQUALI, 2011).

Embora este aumento esteja longe dos níveis observados durante inflamações agudas, a inflamação sistêmica de baixo grau é fortemente associada com: idade avançada, tabagismo, doenças cardiovasculares, diabetes do tipo II, declínio cognitivo, caquexia e obesidade, além de ser um preditor independente de todas as causas de mortalidade. Essas observações levaram a especulação de que a inflamação sistêmica de baixo grau represente um meio de alastramento do processo patológico, pois ela está associada com fatores responsáveis por alterações funcionais tais como a coagulação e fibrinólise, o metabolismo da glicose e dos lipídeos, o sistema renina-angiotensina e o eixo hipotálamo-hipófise e a disfunção endotelial (Figura 1) (BRUUNSGAARD, 2005).

É possível então que doenças crônicas resultem do uso constante dessa interface, que responde beneficemente em curto prazo, mas promove prejuízos em longo prazo (BRUUNSGAARD, 2005).



Figura 1: Fatores que interagem com os mediadores da inflamação.

Fonte: Adaptada de Bruunsgaard, 2005.

Em obesos, o estado de inflamação sistêmica de baixo grau tem sido caracterizado pela obesidade visceral, pois o tecido adiposo visceral é capaz de produzir citocinas como o TNF- α , a IL-6 e a IL-1, além de quimiocinas como a proteína inflamatória dez (IP-10), a interleucina oito (IL-8), a interleucina 18 (IL-18), a proteína quimiotática de monócitos (MCP-1) e outras adipocinas como inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1), leptina, resistina, visfatina e adiponectina, que atuam direta ou indiretamente como mediadores dessa inflamação (REPACE; GAMBERINI; PASQUALI, 2011). Além disso, há um corpo considerável de estudos que demonstram níveis alterados de alguns fatores circulantes, como o aumento nos níveis de PCR, TNF- α , IL-6 e outros marcadores biológicos da

inflamação, nessa população (FORD, 2003; ALBERT; GLYNN; RIDKER, 2003; LUC et al., 2003; RIDKER et al., 1997; ENGSTROM et al., 2003; MOSCA, 2002).

Já que a inflamação sistêmica de baixo grau tem sido entendida como um gatilho para o desenvolvimento de outras doenças no sujeito obeso, é importante compreender as causas desse quadro inflamatório, pois, apesar de em adultos existirem outros fatores que podem aumentar os níveis de inflamação, dentre eles, o tabagismo, artrite e doenças cardiovasculares, a associação entre obesidade e inflamação em crianças e adolescentes suporta uma relação direta, devido à baixa prevalência de tabagismo e doenças pré-existentes (VISSER, 2001). Além disso, a redução no peso corporal é acompanhada pela diminuição e até normalização desses parâmetros biológicos, o que dá mais suporte a essa associação (ESPOSITO et al., 2003; RYAN e NICKLAS, 2004).

Essas causas permaneceram obscuras até a descoberta do papel do tecido adiposo. Atualmente há um crescente esclarecimento sobre como a obesidade pode gerar um estado inflamatório sistêmico de baixo grau. Apesar dos mecanismos envolvidos ainda não serem completamente elucidados, existem algumas proposições que indicam como o excesso de gordura influencia na instalação do quadro inflamatório, que ao tornar-se crônico, como dito anteriormente, exporá o obeso a várias enfermidades.

A primeira proposição está relacionada à semelhança entre os pré-adipócitos e os macrófagos. Os adipócitos compartilham com as células imunes certas propriedades como a ativação complemento e a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6) (ROSEN et al., 1989; HOTAMISLIGIL; SHARGILL; SPIEGELMAN, 1993). A semelhança dos macrófagos, os pré-adipócitos possuem a capacidade para fagocitose em resposta a alguns estímulos (COUSIN et al., 1999; CHARRIERE et al., 2003). Ademais, numerosos genes que codificam fatores de transcrição, citocinas, moléculas sinalizadoras inflamatórias e transportadores de ácidos graxos que são essenciais para biologia do adipócito, são também funcionalmente expressos nos macrófagos (NAGY et al., 1998; MAKOWSKI et al., 2001). Dessa forma, os pré-adipócitos, que estão ativos em sujeitos obesos, podem produzir citocinas pró-inflamatórias.

Outra proposição está relacionada a infiltração de macrófagos no tecido adiposo, os quais são produtores de citocinas inflamatórias. Estudos de expressão gênica têm

demonstrado, em modelos genéticos de roedores obesos, que a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas no processo inflamatório foi marcadamente alterada (SOUKAS et al., 2000). Essa variação foi essencialmente relacionada à infiltração de macrófagos no TAB (tecido adiposo branco) de camundongos obesos. Essa presença local de macrófagos é responsável pela maior parte do TNF- α localmente produzido e por uma importante parte da produção de IL-6 e óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) (WEISBERG et al., 2003; XU et al., 2003). A infiltração de macrófagos, também tem sido reportada no TAB de pacientes obesos (WEISBERG et al., 2003; CINTI et al., 2005; CLEMENT et al., 2004; CANCELLO et al., 2005; CURAT et al., 2004; TCHOUKALOVA et al., 2004).

É digno de nota que uma pequena redução no peso corporal é acompanhada não somente pela melhora no processo inflamatório e nas comorbidades, mas também pela redução da expressão gênica das proteínas inflamatórias (XU et al., 2003; CLEMENT et al., 2004).

Esse aumento na infiltração de macrófagos pode representar a causa e/ou a consequência da inflamação sistêmica de baixo grau associada com a obesidade (WELLEN e HOTAMISLIGIL, 2003; WELLEN e HOTAMISLIGIL, 2005). Os mecanismos celulares e moleculares responsáveis por essa infiltração de macrófagos permanecem não totalmente compreendidos. Embora tenha se sugerido que a presença de macrófagos dentro do TAB possa derivar dos pré-adipócitos, alguns experimentos tem demonstrado que os macrófagos provavelmente originam-se de precursores da medula óssea (CHARRIERE et al., 2003; SAILLAN-BARREAU et al., 2003; WEISBERG et al., 2003).

Outros estudos têm sugerido que o mecanismo de articulação entre o processo inflamatório e o tecido adiposo tem sido justificado pela hipóxia causada pela reduzida vascularização tecidual. No obeso, uma redução de 30-40% no fluxo sanguíneo do tecido adiposo tem sido observada, e está relacionada principalmente a dois fatores (SUMMERS et al., 1996; JANSSON et al., 1998; KARPE et al., 2002): (a) a redução da vasodilatação e aumento da vasoconstrição capilar, devido ao aumento na liberação de angiotensina II e ao aumento da atividade do sistema simpático (GOSENS et al., 2004); e (b) a compressão dos vasos sanguíneos do estroma pelos adipócitos hipertrofiados, um fenômeno

particularmente evidente em adipócitos da periferia (BELL et al., 2008; BRAHIMI-HORN e POUYSSEGUR, 2007; HOSOGAI et al., 2007).

Por sua vez, a hipóxia pode aumentar a disponibilidade de fatores envolvidos no processo inflamatório. Um dos mais importantes é o fator induzível por hipóxia um alfa (HIF-1 α), cujos valores estão significativamente aumentados devido a inibição do complexo ubiquitina-proteasoma, o qual está envolvido na degradação do HIF-1 α (SEMENZA, 2002; PAPANDREOU et al., 2006; CANCELLO et al., 2005; MINET et al., 2001). Uma vez ativado, o HIF-1 α transloca para o núcleo onde se dimeriza. O complexo derivado liga-se ao promotor de vários genes alvo envolvido no processo de inflamação, tais como, o fator de crescimento vascular endotelial (VEGF) (SEMENZA, 2002; PAPANDREOU et al., 2006; CANCELLO et al., 2005; MINET et al., 2001), TNF- α , IL-1, IL-6, MCP-1, PAI-1, fator inibitório de migração do macrófago (MIF1) (KOONG et al., 2000; CALANDRA et al., 1995), iNOS, metalopeptidase matrix nove (MMP9), and metalopeptidase matrix dois (MMP2) (SEMENZA et al., 2000).

Outro fator induzido pela hipóxia é o fator nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$), o qual transloca para núcleo e ativa a transcrição de alguns genes inflamatórios (TNF- α , IL-1, IL-6, iNOS) (MICHIELS et al., 2002; BAEUERLE e HENKEL, 1994). A liberação dessas citocinas e quimiocinas, em associação com a abundância de adipócitos necróticos induzidos pela hipóxia tecidual, por sua vez, determina o recrutamento de macrófagos para dentro do tecido adiposo, especialmente o tecido adiposo visceral (CINTI et al., 2005; ZEYDA et al., 2007). Esse “recrutamento de macrófagos”, predominantemente da subclasse M1, (LUMENG et al., 2007) parecem ser responsáveis pela manutenção da inflamação no tecido adiposo, pela ativação de células Th1 (GORDON, 2003), e pela progressiva disfunção do adipócito, e posteriormente, pela necrose do adipócito, o que mantém esse mecanismo como um ciclo vicioso. Um mecanismo adicional envolvido na manutenção da inflamação é representado pela angiogênese induzida pela hipóxia, a qual libera alguns fatores angiogênicos como VEGF, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), TNF- α , MIF, IL-6, IL-8, fator de crescimento transformador β (TGF- β), angiopoetina, leptina, e adiponectina dos adipócitos e macrófagos (SIERRA-HONIGMANN et al., 1998; SHIBATA et al., 2004; FERRARA e KERBEL, 2005; PANG et al., 2008).

Um recente estudo reportou que o estado de inflamação do tecido adiposo foi associado com o fenótipo do macrófago no tecido adiposo (PATSOURIS et al., 2008). A obesidade induzida por dieta com alto teor de gordura, em ratos, alterou o fenótipo de macrófagos M2 para macrófagos M1 no tecido adiposo (LUMENG; BODZIN; SALTIEL, 2007). A ativação do macrófago tem sido operacionalmente definida em dois estados polarizados separados, M1 e M2 (MANTOVANI et al., 2004). O macrófago M1 produz TNF- α , IL-6 e óxido nítrico. Em contraste, o macrófago M2 produz citocinas anti-inflamatórias. Assim, pode ser entendido que os macrófagos M1, induzem o estado inflamatório, e os macrófagos M2 reduzem esse estado no tecido adiposo.

Resumidamente pode-se inferir que a hipóxia promovida pelo excesso de gordura inicia um processo inflamatório local, pela ativação de genes que levarão a produção de citocinas e pelo processo necrótico do adipócito, essa inflamação promove a infiltração de macrófagos, que por sua vez aumentam ainda mais a produção de fatores inflamatórios, tornando assim, esse processo que era local em um quadro sistêmico de inflamação.

Tem também se sugerido que a hiperleptinemia contribua para o estado inflamatório do obeso. A leptina auxilia na instalação da inflamação, pois ela pode promover a diapedese dos macrófagos do fluxo sanguíneo para o TAB (CURAT et al., 2004). Ademais, a leptina pode exercer efeitos biológicos periféricos em função da sua estrutura semelhante à citocina (AHIMA e FLIER, 2000). De fato, os receptores de leptina pertencem à família de receptores de citocinas classe I, e vários trabalhos publicados tem reportado que existe aumento na resposta inflamatória associada com a presença de hiperleptinemia sem obesidade, e que a leptina é capaz de controlar a produção e ativação do TNF- α pelos macrófagos (LOFFREDA et al., 1998; VAN DIELEN et al., 2001). Entretanto, esses mecanismos não têm sido claramente identificados e precisam ser melhores compreendidos.

Além disso, a célula de gordura é também capaz de sintetizar e secretar uma quimiocina, MCP-1, um fator que recruta monócitos circulantes que são superexpressos na obesidade (CHRISTIANSEN; RICHELSEN; BRUUN, 2005). Tem sido proposto que fatores secretados pelo adipócito maduro e hipertrofiado humano, possam ativar células endoteliais presentes no TAB. Por sua vez, as

células endoteliais podem favorecer a adesão e a transmigração de monócitos levando a infiltração de macrófagos (CURAT et al., 2004; AVOGARO e KREUTZENBERG, 2005).

As duas proposições, citadas acima, para explicação da inflamação crônica de baixo grau em sujeitos obesos, parecem não serem excludentes, podendo uma ser complemento da outra. Em favor desse entendimento conta a produção de IL-6, que tem sido identificada tanto em pré-adipócitos como em monócitos/macrófagos.

É bem conhecido que a produção de IL-6 pelo tecido adiposo é aumentada na obesidade (FRIED; BUNKIN; GREENBERG, 1998; BASTARD et al., 2002). Entre 15 a 30% dos níveis circulantes de IL-6 derivam do tecido adiposo na ausência de inflamação aguda (MOHAMED-ALI et al., 1997). Sua secreção é maior no tecido adiposo visceral (TAV) do que no tecido adiposo subcutâneo (TAS) (FRIED; BUNKIN; GREENBERG, 1998; FAIN et al., 2004). Conformemente, a expressão do mRNA da IL-6 é maior no TAV do que no TAS (FRIED; BUNKIN; GREENBERG, 1998). Entretanto, no tecido adiposo, a grande proporção de IL-6 não é produzida por adipócitos maduros, mas por células da fração do estroma vascular, incluindo pré-adipócitos, células endoteliais e monócitos-macrófagos (FRIED; BUNKIN; GREENBERG, 1998; FAIN et al., 2004).

A IL-6 é uma citocina multifuncional que atua em muitas células e tecidos. Um dos principais efeitos da IL-6 é a indução da produção hepática de PCR, a qual é fator independente para maior risco de complicações cardiovasculares (RIDKER, 2003). Interessantemente, existe uma forte relação entre o conteúdo de IL-6 no tecido adiposo e os níveis circulantes de IL-6 e PCR (MAACHI et al., 2004). Além disso, tem sido proposto que a IL-6 possui um papel central na ligação entre obesidade, inflamação e doença arterial coronariana (YUDKIN et al., 2000). Como o TAV pode produzir maiores quantidades de IL-6 do que o TAS (FRIED; BUNKIN; GREENBERG, 1998), isso pode parcialmente explicar a relação entre depósitos centrais de gordura e risco de complicações cardiovasculares em humanos. Ademais, a produção de IL-6 pelo tecido adiposo pode diretamente afetar o metabolismo hepático induzindo a secreção de lipoproteínas de baixíssima densidade (VLDL) e hipertrigliceridemia, já que o TAV

é intimamente conectado ao fígado pelo sistema de veia porta (NONOGAKI, 1995).

A terceira proposição ainda é controversa na literatura científica. Há estudos que apontam que o TNF- α , é superexpresso no TAB de diferentes modelos animais de obesidade, e é considerado o marcador molecular que liga a inflamação a obesidade (UYSAL et al., 1997), inclusive sendo considerado o gatilho do processo inflamatório. Entretanto, há estudos que demonstram que o TNF- α é principalmente produzido por macrófagos e linfócito e se expressa levemente no tecido adiposo subcutâneo e nos depósitos profundos. A obesidade portanto, nem sempre modifica a sua expressão (KOISTINEN et al., 2000). Isso sugere que o tecido adiposo não é diretamente envolvido no aumento dos níveis circulantes de TNF- α observados em humanos obesos. Assim, pode ser hipotetizado que outros mecanismos envolvendo o efeito sistêmico da leptina ou outra adipocina possam induzir a secreção de TNF- α por outro tipo de células como os macrófagos (BASTARD et al., 2006).

Há ainda outra proposição importante, a redução nos níveis de adiponectina. A adiponectina foi descoberta por alguns grupos que lhe atribuíram diferentes nomes: ACRP30 (*adipocyte complement-related protein of 30 kDa*), ou adipoQ e GBP28 (*gelatin-binding protein 28*) em ratos, ou APM1 (*adipose most abundant gene transcript 1*) em humanos (KADOWAKI e YAMAUCHI, 2005). Ela é altamente expressada no tecido adiposo. Níveis plasmáticos de adiponectina, o qual constitui 0,01% das proteínas circulantes, está entre 5 e 30 mg/L em sujeitos controle magros. A expressão do mRNA para adiponectina é dependente da localização do tecido adiposo, é menor no TAV do que no TAS (LIHN et al., 2004).

Dentre as várias funções já descobertas da adiponectina está a função de modular a resposta inflamatória induzida pelo TNF- α , tem sido demonstrado que a adiponectina reduz a secreção de TNF- α pelos macrófagos (OUCHI et al., 2000). Esse efeito anti-TNF- α pode parcialmente explicar o efeito anti-inflamatório e anti-aterogênico da adiponectina.

Resumidamente, pode-se atribuir a inflamação crônica de baixo grau no indivíduo obeso: a hipóxia do tecido adiposo, a secreção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6) por pré-adipócitos e monócitos/macrófagos que infiltraram no tecido adiposo, ao estímulo da IL-6 para produção hepática de PCR,

aos altos níveis circulantes de leptina e a redução na produção de adiponectina. Provavelmente, esses fatores são sinérgicos na instalação do estado inflamatório de baixo grau em sujeitos obesos (Figura 2).

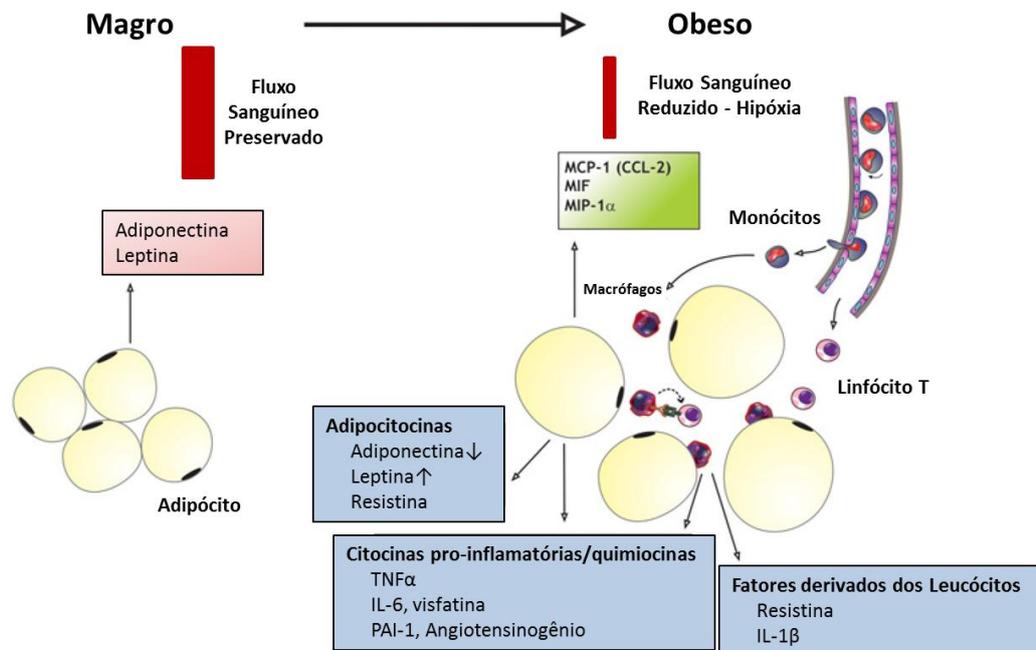


Figura 2: Associação entre a obesidade e a inflamação sistêmica de baixo grau.
Fonte: Adaptada de Tilg e Moschen, 2008.

1.3 OBESIDADE E ESTRESSE OXIDATIVO

Antes de adentrar na complexa associação entre a obesidade e o estresse oxidativo, impõe-se a explanação e a elucidação de alguns conceitos.

O termo radical livre refere-se ao átomo ou molécula altamente reativo, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989; HALLIWELL, 1992). É este não-emparelhamento de elétrons da última camada que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas. Os radicais livres são formados em um cenário de reações de oxido-redução, isto é, ou cedem o elétron solitário, oxidando-se, ou recebem outro, reduzindo-se. Portanto, os radicais livres ou provocam ou resultam dessas reações de oxido-redução.

Já as espécies reativas são moléculas que podem ter ou não elétrons desemparelhados e que também são altamente reativas nos tecidos. Elas são classificadas principalmente entre as que contêm oxigênio, espécies reativas de oxigênio (ERO), e as que contêm nitrogênio, espécies reativas de nitrogênio (ERN). Entretanto, como a maioria das espécies reativas é derivada do metabolismo do oxigênio, daí a denominação mais utilizada, ERO.

Assim sendo, ERO incluem radicais livres, como o superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e o radical hidroxila ($^{\bullet}OH$), os mais tóxicos em sistemas biológicos, e moléculas que também são muito reativas, porém não são radicais livres, como o hidroperóxido (H_2O_2), o qual é formado quando o radical superóxido aceita outro elétron e 2 íons hidrogênio (ROBERTS et al., 2010). Dentre as ERN, destaca-se o radical peroxinitrito ($ONOO^{\bullet}$), formado pela reação do superóxido com o óxido nítrico (NO) (GOMES et al., 2008).

A produção de ERO pode ocorrer por diferentes vias, dentre elas, a cadeia respiratória mitocondrial é a principal fonte por possuir vários centros redox, capazes de transferir um elétron da molécula de oxigênio para formar ânion superóxido (ANGELOPOULOU et al., 2009). As proteínas mitocondriais desacopladoras (UCPs) e os canais iônicos que modificam o gradiente de prótons são fatores relacionados ao controle do estado redox celular. Outras enzimas, como as oxidases de membrana, são também importantes fontes de ERO e espécies reativas de nitrogênio (ERN) que podem se combinar para produzir $ONOO^{\bullet}$ (NUNN et al., 2010). Outras fontes de ERO são: xantina oxidase e a mieloperoxidase que está relacionada a formação de $ONOO^{\bullet}$ (WASSMANN et al., 2004).

Outras definições importantes são as de estado redox e estresse oxidativo. O estado redox refere-se ao balanço entre as substâncias oxidantes e antioxidantes, seu equilíbrio é importante às funções normais da célula, para função tecidual e para processos de sinalização intracelular. Já, quando há um aumento excessivo na produção de ERO, sem sua neutralização pelos antioxidantes, caracteriza-se o estresse oxidativo, ou seja, um desbalanço do estado redox.

Esse estresse oxidativo leva a oxidação de lipídeos e proteínas e pode promover danos à membrana celular, a seus receptores, disfunção enzimática e

interrupção da cascata de sinalização, além de ativar a inflamação, podendo ainda causar dano ao DNA e ácidos nucleicos, e em última instância a morte celular (O'ROURKE et al., 2011; YE, 2011).

Portanto, o excedente de oxidantes promove prejuízos que podem ser irreversíveis. Entretanto, está claro que todos os sistemas biológicos em ambientes oxigenados desenvolveram mecanismos para neutralizar as potenciais consequências deletérias dos oxidantes (RIZZO et al., 2010). A capacidade de defesa antioxidante da célula depende largamente de enzimas que catalisam reações com o oxidante, reduzindo ou inativando sua reatividade, bem como de antioxidantes não enzimáticos, que realizam a mesma função.

Antioxidantes enzimáticos incluem a superóxido dismutase (SOD), que catalisa a reação de dismutação do $O_2^{\bullet-}$ para H_2O_2 , que é subsequentemente catalisado em H_2O e O_2 pela catalase ou pela glutaciona peroxidase (GPx), enzima esta que atua pela oxidação da glutaciona. A redução da forma oxidada da glutaciona é então realizada pela glutaciona redutase via ciclo da glutaciona (CODOÑER-FRANCH et al., 2011).

Os maiores antioxidantes não enzimáticos incluem os seguintes: o tripeptídeo (Glu-Cys-Gly) glutaciona, uma molécula chave, porque é o antioxidante primário intracelular e solúvel em água; um subconjunto de vitaminas, como o α -tocoferol e o ácido ascórbico; e outros fitoquímicos (carotenoides e flavonoides) fornecidos pela dieta. Outros antioxidantes endógenos (albumina, ácido úrico e bilirrubina) também podem contribuir para substancial ação antioxidante *in vivo* (HARVEY et al., 2009; FARBSTEIN; KOZAK-BLICKSTEIN; LEVY, 2010; VALDECANTOS et al., 2010; DEMMING-ADAMS e ADAMS, 2010; BENAVENTE-GARCIA e CASTILLO, 2008).

De modo geral, o entendimento do conceito de estresse oxidativo e de seus efeitos deletérios sobre as estruturas celulares, auxilia na compreensão do seu evidente papel no desenvolvimento de doenças. Como a obesidade provoca o surgimento de doenças associadas, pressupõe-se que exista uma ligação entre o desenvolvimento de comorbidades no sujeito obeso e o estresse oxidativo. Para que tal afirmativa seja satisfeita, é pronunciado que o obeso apresente um desequilíbrio em seu estado redox. Para tanto, é necessário que estudos científicos demonstrem o estresse oxidativo em sujeitos obesos. Como não há

valores de corte para se determinar a presença ou não do estresse oxidativo, grande parte dos estudos compararam os níveis dos biomarcadores do estresse oxidativo entre a população obesa e a população não obesa.

Evidências do estresse oxidativo induzido pela obesidade tem sido acumuladas nos últimos anos. Em um estudo de revisão, Vincent & Taylor (2005) demonstraram alguns desses estudos, que estão apresentados na tabela 1. Baseados nesses achados os autores concluíram que o acúmulo excessivo de gordura leva ao aumento na produção de ERO no sujeito obeso (VICENT e TAYLOR, 2005).

Tabela 1: Evidências da obesidade como indutora do estresse oxidativo em humanos.

Estudo/Referência	Grupo	Biomarcador	Amostra	Resultados Principais
Van Gaal et al. (1998)	Mulheres pré-menopausa	TBARS	Plasma	↑TBARS em mulheres obesas do que não obesas
Skrha et al. (1999)	Mulheres e homens; obesos e diabéticos	MDA	Plasma	↑ MDA em pessoas obesas do que não
Dandona et al. (2001)	Mulheres e homens; obesos e não obesos	Proteína carbonilada, TBARS	Plasma	↑ níveis de proteína carbonilada e TBARS em obesos do que não obeso; após restrição calórica os marcadores foram ↓ em 87 e 15% dos valores basais no grupo obeso
Block et al. (2002)	Mulheres e homens	F2-isoprostanos	Plasma	↑ Isoprostanos de classe II em obesos do que não obesos
Davi et al. (2002)	Mulheres obesas	8-isoprostanos	Urina	↑ Isoprostano em obesidade genóide e andróide vs mulheres não obesas
Olusi (2002)	Crianças e adultos; obesos e não obesos	MDA	Plasma	↑ MDA em pessoas obesas do que não obesos; ↓ CuZn-SOD e GPX em pessoas com obesidade mórbida do que não obesos.
Ozata et al. (2002)	Homens	TBARS	Plasma e eritrócito	↑ TBARS e ↓ CuZnSOD eritrocitária e atividade da GPX em homens obesos do que não obesos
Stojiljkovic et al. (2002)	Homens e mulheres hipertensos	F2-isoprostanos	Plasma	Após infusão de lipídeo e heparina, formação de F-isoprotano ↑ em obesos do que não obesos Isoprostane levels ↑ linear no nível de isoprotano em homens e mulheres com IMC >25–27 kg/m ²
Keaney et al. (2003)	Homens e mulheres	F2-isoprostanos	Soro	
Konukoglu et al. (2003)	Homens e mulheres	TBARS	Plasma	↑ TBARS em pessoas obesas do que não obesas
Russell et al. (2003)	Homens	4-HNE	Músculo esquelético	↑ 4-HNE em pessoas obesas do que não obesas
Urakawa et al. (2003)	Homens	8-epi PGF _{2α}	Plasma	↑ 8-epi PGF _{2α} em homens obesos do que não obesos; 8-epi PGF _{2α} correlacionado com massa gorda e área de gordura visceral

Vincent et al. (2004)	Homens e mulheres	TBARS, PEROX	Plasma	↑ TBARS e hidroperóxido pós-exercício em pessoas obesas do que não obesas
Uzun et al. (2004)	Homens e mulheres com obesidade mórbida	MDA	ox LDL	↓ MDA na LDL após cirurgia bariátrica
Vincent et al. (2005)	Mulheres idosas obesas	PEROX	Plasma	↑ TBARS e hidroperóxido pós-exercício em mulheres obesas do que não obesas
Furukawa et al. (2004)	Homens e mulheres, obesos e não obesos	TBARS, 8-epi-PGF _{2α}	Plasma, Urina	↑ TBARS e nível de 8-epi-PGF _{2α} urinário foram correlacionados com IMC e circunferência da cintura
Yesilbursa et al. (2005)	Homens e mulheres obesos	MDA	Plasma	↓ MDA após 6 meses de terapia com Orlistat
Ferretti et al. (2005)	Mulheres obesas e não obesas	PEROX	HDL, LDL	↑PEROX na HDL e LDL em pessoas obesas do que não obesas

TBARS=substância reativas ao ácido tiobarbitúrico; MDA=malondialdeído; SOD=superóxido dismutase; CuZn SOD=isoforma cobre zinco da SOD; NEFA=ácido graxo não-esterificado; IMC=índice de massa corporal; 4-HNE=4 hydroxynenal; 8-epi PGF_{2α}=um isoprostano específico; LDL=lipoproteína de baixa densidade; HDL=lipoproteína de alta densidade; PEROX=hidroperóxido lipídicos.

FONTE: Adaptada Vincente e Taylor, 2005

A partir da tabela, fica notória a relação entre a obesidade e o estresse oxidativo, entretanto, para que essa relação seja consistente é necessário que se demonstre que mesmo em crianças e adolescentes, que possuem um menor tempo de obesidade, apresentem também esses resultados, visto que outras doenças presente no adulto podem falsear essa afirmação.

Tem sido demonstrado entretanto, que ambos, obesidade e estresse oxidativo, podem manifestar-se dentro das primeiras duas décadas de vida, e a exposição crônica contribui para o início e progressão da doença cardiovascular, diabetes, aterosclerose e artrite (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

Alguns fatores podem influenciar a magnitude do estresse oxidativo na obesidade, incluindo a distribuição de gordura corporal, nível de aptidão física, idade avançada, secreção de proteínas anti-inflamatórias como a grelina, exercício agudo, doenças hepáticas, síndrome do ovário policístico, diabetes, síndrome metabólica e hipertensão (CONSTANTIN et al., 2005). Porém de modo geral, assume-se que sujeitos obesos, independentemente da idade, apresentam aumento dos níveis de espécies reativas. Um estudo de Vincent et al. (2007) sugere uma interessante progressão do estresse oxidativo com base na idade (Figura 3) (VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

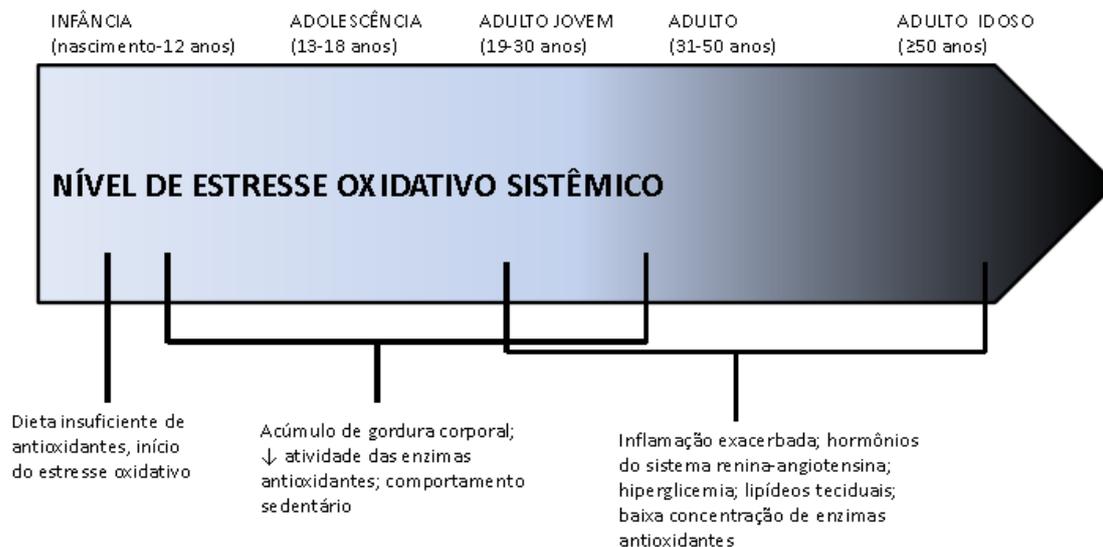


Figura 3: Progressão potencial do estresse oxidativo relacionado à idade e obesidade.
 Fonte: Adaptada de Vincente et al., 2007

Outros estudos têm demonstrado associações positivas entre mensurações do estresse oxidativo e adiposidade, o que contribui com o corpo de evidências que indicam a associação entre esses dois parâmetros (FURUKAWA et al., 2004; URUKAWA et al., 2003; COUILLARD et al., 2005; SUEMATSU et al., 2005; KEANEY et al., 2003). A obesidade, particularmente a obesidade central, é um preditor forte e independente do estresse oxidativo sistêmico.

Entretanto, a maioria das pesquisas que associam obesidade e estresse oxidativo foi produzida com a população adulta, poucos estudos demonstraram que o adolescente obeso apresenta o estresse oxidativo sistêmico. Apesar de parecer ser óbvio que o adolescente obeso já apresente este quadro, entender a especificidade do desenvolvimento do estresse oxidativo, nesta população, poderia auxiliar no estabelecimento de formas mais específicas de tratamento, que busquem impedir o avanço do estresse oxidativo pela vida e o consequente desenvolvimento de doenças crônico degenerativas.

Neste sentido, Sun et al. (2012) demonstraram que a NAPH oxidase nos monócitos de adolescentes obesos está altamente ativada. Além disso, Karamouzis et al. (2011) verificaram perda no balanço homeostático entre oxidantes e antioxidantes em adolescentes com síndrome metabólica.

Diante destas evidências, pode-se concluir que o estresse oxidativo se agrava com o avanço da idade e com o avanço da massa gordurosa. Assim, torna-se necessário entender os mecanismos que sustentam essa relação, procurando identificar quais fatores provocam o estresse oxidativo no sujeito obeso.

Respaldo na literatura científica, pode-se sustentar que o aumento na produção de espécies reativas com a redução concomitante na capacidade de defesa antioxidante seja o estado apresentado pelo obeso.

Vários fatores têm sido apontados como responsáveis pelo aumento da produção de espécies reativas em sujeitos obesos, dentre os já identificados tem-se: o consumo calórico excessivo, a hiperglicemia, o elevado nível de lipídeos tecidual e sanguíneo, a elevação na contagem de células brancas, a resposta endotelial e a hiperleptinemia.

Quando o consumo calórico excede o gasto energético, os substratos induzem um aumento na atividade do ciclo de Krebs e um excesso de ERO. Assim, o consumo excessivo de macronutrientes induz a geração de ERO. Fatores específicos da dieta podem estar envolvidos em mudanças nos adipócitos. Neste sentido, 75g de glicose tem demonstrado induzir a um aumento na geração de superóxido em leucócitos com liberação das EROs para o meio extracelular (ESPOSITO et al., 2003). Um efeito similar tem sido observado com consumo de gordura saturada (ex: sorvete) (RYAN e NICKLAS, 2004).

Além disso, uma refeição com alto conteúdo de gordura e carboidrato induz a um estresse oxidativo e inflamatório mais intenso e prolongado, com alta geração de ERO, em obesos, quando comparados com sujeitos não obesos (PATEL et al., 2007), o que sugere uma resposta diferenciada em sujeitos obesos. Assim, é possível escolher alimentos não inflamatórios ou anti-inflamatórios para minimizar o estresse oxidativo e a inflamação pós-prandial. Para este fim, alguns estudos demonstraram que o consumo de laranja com a refeição de alto conteúdo de gordura e carboidrato levou a uma inibição quase total da geração de ERO (DANDONA et al., 2010). Dois principais flavonoides estão contidos no suco de laranja, naringina e hesperidina, que exercem um poderoso efeito supressivo das ERO (GHANIM et al., 2007). É possível que o

suco de laranja que é rico em flavonóides e vitamina C possa alterar ou suprimir o estresse oxidativo (CODOÑER-FRANCH et al., 2010).

Devido a próxima associação entre obesidade e resistência insulínica a hiperglicemia tem sido responsabilizada por parte do estresse oxidativo encontrado em sujeitos obesos. Ela pode aumentar o estresse oxidativo por meio de algumas vias. A indução de ERO intracelular, gerada pelo gradiente eletromecânico na cadeia transportadora de elétrons, que resulta no aumento da produção de superóxido (NISHIKAWA et al., 2000). A auto-oxidação da glicose livre catalisada por metal, onde a glicose inicia por si mesma a reação de auto-oxidação produzindo ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio (WOLFF, 1993). A auto-oxidação catalisada por metal das proteínas ligadas aos produtos de Amadori, que produz o superóxido, a hidroxila e compostos carbonil altamente reativos (BAYNES, 1999). A produção de ERO via NADPH oxidase através da ativação da proteína quinase C em células endoteliais (INABA et al., 1996). E, finalmente, a hiperglicemia pode induzir o consumo de glicose pelo adipócito, aumentando também formação de ERO dentro do mesmo (TAILOR et al., 2003).

Como a obesidade é caracterizada pelo aumento do consumo de gordura, aumento do estoque de gordura, excessiva concentração de lipídeos intracelulares e dislipidemia, é hipotetizado que essa alta concentração de lipídeos tenha relação com os danos oxidativos (DAVI et al., 2002; VINCENT; MORGAN; VINCENT, 2004).

O estresse oxidativo pode ocorrer devido ao impacto metabólico dos triglicerídeos intracelulares, que podem suprimir o transportador mitocondrial de adenina nucleotídeo, aumentando a produção de superóxido na cadeia transportadora de elétrons e diminuindo o conteúdo intramitocondrial de adenina difosfato. Os elétrons então se acumulam dentro da cadeia transportadora de elétrons reagindo com o oxigênio adjacente para formar o superóxido (BAKKER et al., 2000).

A adiposidade abdominal ou visceral também está associada a níveis elevados de ácidos graxos livres (AGLs) plasmáticos. AGLs elevam a glicose sanguínea e a produção de radicais nitróxidos na musculatura vascular e células endoteliais via proteína quinase C, mecanismo demonstrado em cultura de células vasculares. AGLs também induzem as células brancas a, agudamente, formarem

ERO (superóxido, ácido hipocloroso e peroxinitrito) em cultura (INOBUCHI et al., 2000). Os lipídeos servem como substrato para oxidação, estimulando a formação de espécies reativas e aumentando o acúmulo de produtos oxidativos, especialmente no tecido adiposo branco (FURUKAWA et al., 2004).

O perfil dislipidêmico na obesidade inclui elevados níveis de triglicerídeos e LDL, além de baixo nível de HDL (DOBRIAN et al., 2000). Hipercolesterolemia é associada com aumentada oxidabilidade de moléculas de LDL. A fase de atraso da oxidação de lipídeos é menor em moléculas de LDL de indivíduos obesos, naturalmente uma rápida peroxidação lipídica em ácidos graxos poliinsaturados de partículas de LDL ocorre (VAN GALL; VERTOMMEN; DE LEEUW, 1998). A suscetibilidade dos lipídeos a modificações oxidativas é também demonstrada pela alta concentração de 4-HNE por unidade de triglicerídeos intramusculares em pessoas obesas (RUSSEL et al., 2003).

O consumo dietético de lipídeos específicos também influencia o estresse oxidativo sistêmico. Especificamente, o consumo de ácido linoléico conjugado (um ácido graxo insaturado de 18 carbonos com duas ligações duplas conjugadas, derivado de produtos lácteos e carne de animais ruminantes) aumenta a concentração urinária de 8-epiPGF 2α em 420% em homens obesos (BASU et al., 2000). Outro estudo indicou que a adição do consumo de ácido linoléico conjugado (4,2 g/dia) ou placebo a dieta normal de homens obesos, durante 4 semanas, aumentou em 50% a concentração urinária de 8-epiPGF 2α no grupo tratado (RISERUS et al., 2004). Ao retornar a dieta normal por 2 semanas, a elevação do estresse oxidativo desapareceu.

Alternativamente, o aumentado número de moléculas de lipídeo presentes na obesidade pode ser um grande alvo para modificações oxidativas pelas ERO (OLUSI, 2002; VINCENT et al., 2001). Em um estudo comparativo entre ratos Zucker, obesos e magros, alimentados com dieta de baixo e alto conteúdo de lipídeos, a concentração de hidroperóxidos lipídicos e TBARS no miocárdio foram elevadas em animais obesos em 18 e 66%, respectivamente. O maior colaborador para peroxidação lipídica nos animais alimentados com alto teor de gordura foi o conteúdo de lipídeos ($r = 0,87$). Quando o nível de peroxidação lipídica foi normalizado pelo tecido gorduroso, a diferença no estresse oxidativo entre animais magros e obesos desapareceu, indicando que a maior quantidade

de tecido gorduroso em obesos é a responsável pela peroxidação lipídica exagerada (VINCENT et al., 2001).

Furukawa et al. (2004) encontraram em alguns modelos de camundongos obesos (KKAy, db/db, obesidade induzida por dieta e C57BL/6) que o acúmulo excessivo de gordura, ao longo do tempo, no tecido adiposo branco aumenta o conteúdo de TBARS dentro do adipócito. Foi concluído que as ERO e os biomarcadores da peroxidação lipídica entram na circulação sistêmica e iniciam um ciclo vicioso do estresse oxidativo sistêmico na obesidade.

Especificamente no adipócito, os mecanismos para geração de ERO incluem sistemas metabólicos específicos, como o sistema nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidase, e a ação de outras oxidases (lipoxigenases e xantina oxidase) (BEDARD e KRAUSE, 2007). O exato mecanismo responsável pelo aumento na produção de ERO mediada pela NADPH oxidase no adipócito não é claro. Foi demonstrado que a hipóxia, citocinas inflamatórias como o TNF- α e o estresse do retículo endoplasmático induzem o aumento no mRNA para NADPH oxidase (ZHANG et al., 2010; MOE et al., 2006; ZHANG e KAUFMAN, 2008). Assim, o aumento na expressão da NADPH oxidase e o aumento na produção de NADPH potencialmente contribuem para o observado aumento na produção de radical superóxido no tecido adiposo no contexto da obesidade.

A cadeia respiratória transportadora de elétrons é a maior fonte de produção celular de ERO. A transferência incompleta do elétron ocorre em condições fisiológicas normais, resultando na produção de ERO. A obesidade está associada com um aumento no estresse oxidativo na mitocôndria do adipócito, devido ao processamento excessivo de ácidos graxos, causando desacoplamento mitocondrial e um aumento na liberação de ERO (GAO et al., 2010).

Já o retículo endoplasmático é central na regulação do metabolismo de lipídeos e proteínas e é responsável pela síntese de proteínas. No retículo endoplasmático, proteínas sofrem montagem completa e modificações pós-traducionais, processos que são requeridos para seu funcionamento biológico normal. Adequado dobramento de proteínas e a formação de pontes dissulfeto são críticos para formação apropriada da estrutura terciária e quaternária das proteínas e são dependentes do estado redox do lúmen do retículo

endoplasmático. Esse processo consome energia e pode ser responsável por 25% da geração total de ERO (TU e WEISSMAN, 2004). Quando o requerimento para dobramento de proteínas no retículo endoplasmático aumenta, a produção de ERO derivada do mesmo também aumenta. Uma necessidade excessiva para o estoque de gordura leva a um aumento na atividade do retículo endoplasmático, o que pode sobrecarregar sua capacidade funcional. Tal “estresse” do retículo endoplasmático pode ser iniciado pelo aumento na demanda para síntese de novas proteínas ou pelo acúmulo de proteínas mal dobradas (*misfolded proteins*), promovido pelo estímulo inflamatório (MALHOTRA et al., 2008). Adicionalmente, o estresse do retículo endoplasmático leva a ativação de vias sinalizadoras da inflamação com aumento na produção mitocondrial de ERO (MALHOTRA e KAUFMAN, 2007).

Neste sentido, a geração excessiva de ERO no tecido adiposo ocorre por alguns mecanismos patofisiológicos interrelacionados, incluindo a sobrecarga metabólica de nutrientes, disfunção mitocondrial e estresse do retículo endoplasmático. A geração de ERO é perpetuada pela resposta inflamatória, levando a um ciclo vicioso (CODOÑER-FRANCH et al., 2011).

Em resumo, muitos sinais estressores que originam do tecido adiposo resultam em aumento dos níveis de ERO, alteram a função da mitocôndria e do retículo endoplasmático, e podem convergir para vias comuns, os quais se regulam mutuamente. É provável que a regulação coordenada dessas vias afetadas pelas ERO é uma característica central da obesidade e pode resultar em perpetuação da inflamação e do estresse oxidativo.

Outro aspecto importante, que contribui para produção de ERO é a contagem de células brancas, que devido ao estado inflamatório crônico, é alta em pessoas obesas, com elevação ocorrendo na subfração de monócitos e tendendo a elevação nas subfrações de neutrófilos (KULLO; HENSRUD; ALLISON, 2002).

Monócitos produzem superóxido, peróxido de hidrogênio, radical hidroxila, peroxinitrito, ácido hipocloroso e mieloperoxidase, e quando se desenvolvem em macrófagos, produzem interleucinas e TNF- α . Neutrófilos geram superóxido via NADPH oxidase com os intermediários da reação como o H_2O_2 , e neutrófilos e monócitos podem converter H_2O_2 em ácido hipocloroso via mieloperoxidase. O

sistema mieloperoxidase-H₂O₂ pode também produzir cloraminas (oxidantes de longa vida), aldeídos reativos e tirosina peroxidase. As EROs produzidas por essas células imunes estão associadas com crosslinks de tirosina, TBARS, ácido linoleico oxidado, além de proteínas e lipoproteínas séricas oxidadas (GARG et al., 2000). Uma alta contagem de células brancas e mieloperoxidase são consistentes e poderosos preditores de eventos cardiovasculares (LIPINSKI, 2001).

Em humanos e animais as células endoteliais vasculares também possuem algumas fontes enzimáticas para geração de oxidantes, incluindo a NADPH oxidase, a xantina oxidoreductase e a NO sintase. A principal fonte do superóxido endotelial parece ser a NADPH oxidase (CAI e HARRISON, 2000). O NADPH pode ser modificado por outras citocinas e hormônios como aqueles do sistema renina-angiotensina. Por exemplo, na hipertensão induzida por angiotensina II, o nível de superóxido endotelial está significativamente elevado, como consequência da aumentada atividade da NADPH oxidase (RAJAGOPALAN et al., 1996). Uma enzima menor, xantina oxidoreductase existe em duas formas: xantina oxidase e desidrogenase. É a xantina oxidase que reage com o oxigênio para formar superóxido e H₂O₂, especialmente em condições isquêmicas (KAMINSKI et al., 2002). O superóxido excessivo rapidamente reage com NO produzindo ONOO[•], o qual reduz a biodisponibilidade de NO e causa nitrosilação de proteínas (WHEATCROFT et al., 2003). A última enzima, NO sintase, é similar a citocromo P450, a qual catalisa o transporte de elétrons do NAPH para outro grupo heme (CAI e HARRISON, 2000). Essa enzima pode tornar-se desacoplada, resultando em excesso de O₂^{•-} ou ONOO[•]. Essas alterações estão associadas na disfunção endotelial e a desensibilização vascular (MUNZEL et al., 2000).

A concentração dos hormônios no sistema renina-angiotensina está aumentada em pessoas obesas (EGAN; GREENE; GOODFRIEND, 2001). Excesso de hormônios nesse sistema, especialmente angiotensina II, pode diretamente afetar os níveis de ERO na vasculatura por alguns mecanismos: (a) dramático aumento na formação vascular de O₂^{•-}, em parte pela ativação da NAPH oxidase, em uma maneira dose dependente (CAI e HARRISON, 2000; SCHIFFRIN, 2002); (b) aumento na expressão de proteínas transmembrana para NAPH oxidase; (c) produção de H₂O₂ dentro das células endoteliais (DANDONA

et al., 2003); e (d) aumento no captação de LDL pelos macrófagos, o qual aumenta a oxidação de lipoproteína e a lesão oxidativa (BRASIER; RECIOS; ELEDRISI, 2002).

Além disso, a elevada pressão intraluminal da hipertensão pode estimular a produção de ânions superóxido e ONOO[•] na vasculatura. As EROs inibem os canais de potássio ativados por cálcio e reduz a sensibilidade vascular, como tem sido encontrado em tecido arterial de ratos Zucker obesos. A administração de SOD restabeleceu a sensibilidade vascular e reduziu o estresse oxidativo em ratos obesos, sugerindo um papel para ERO no envolvimento entre obesidade e hipertensão. A hipertensão por si só aumenta a formação de oxidantes, e o excesso de hormônios do sistema renina-angiotensina pode exarcebar esse processo. Ambos podem aumentar a disfunção endotelial na obesidade (FRISBEE; MAIER; STEPP, 2002).

Outro hormônio que contribui para a elevada produção de ERO em obesos é a leptina, um polipeptídeo produzido principalmente pelo tecido adiposo branco, que atua nos centros hipotalâmicos para regular a ingestão alimentar e o gasto energético. A concentração plasmática de leptina é proporcional à quantidade de tecido adiposo (CONSIDINE et al., 1996). Excessivas concentrações estão envolvidas na angiogênese, calcificação vascular e trombose, além de ter sido postulada como fator de risco cardiovascular em pessoas obesas (MAINGRETTE e RENIER, 2003). A leptina pode diretamente estimular a produção de ERO como o H₂O₂ e [•]OH em cultura de células endoteliais, e pode funcionar como um precursor aterogênico (BOULOUMIE et al., 1999). Administração de leptina em ratos Wistar ocasionou aumento no conteúdo plasmático e urinário de hidroperóxido lipídico, MDA, isoprostano e proteína carbonilada (27-33% maior) do que ratos controles não injetados (BELTOWSKI; WOJCICKA; JAMROZ, 2003).

A leptina e seus receptores compartilham estruturas químicas e funções similares com a IL-6 (FAGGIONI; FEINGOLD; GRUNFELD, 2001). A leptina é também uma substância pró-inflamatória que estimula a proliferação de monócitos e macrófagos e a produção de citocinas inflamatórias (BELTOWSKI; WOJCICKA; JAMROZ, 2003). Nos macrófagos, derivados de monócitos, a leptina eleva a atividade da proteína quinase C e da lipase lipoproteica, a qual é pró-aterogênica (MAINGRETTE e RENIER, 2003). Ademais, a leptina estimula

indiretamente a produção de citocinas inflamatórias como a IL-6 e o TNF- α , e essas citocinas aumentam a produção da NAPH oxidase. A leptina pode também estimular o acúmulo de colesterol na linha celular de macrófagos murino, especialmente em altas concentrações de glicose, um mecanismo que pode promover a peroxidação lipídica (O'ROURKE et al., 2002).

Finalmente, a leptina reduz a atividade de antioxidantes celulares. A paranoxase-1 (PON-1) e sua redução estão relacionadas ao aumento urinário de plasmático de 8-isoprostano, elevação do MDA e hidroperóxidos plasmáticos. [105] Devido a PON-1 estar envolvida na prevenção e acúmulo de peróxidos no LDL, a redução na atividade desta enzima pode contribuir para o desenvolvimento da doença arterial coronariana. Ferreti et al. (2005) demonstraram que a atividade da PON em HDL é menor em obesos comparado com sujeitos não obesos (120 vs 475 IU/mg). Nesse grupo de obesos a baixa atividade da PON foi acompanhada por elevações no conteúdo de hidroperóxidos lipídicos no HDL e LDL, e foi inversamente correlacionada com a concentração de leptina plasmática. Desta forma, a leptina está então envolvida, em alguns mecanismos que promovem estresse oxidativo na obesidade (FERRETI et al., 2005).

Todos os fatores mencionados acima podem estar concorrendo isoladamente ou simultaneamente no obeso, para produção de ERO. O que parece ser claro é que o agravamento da obesidade e o tempo de exposição do sujeito a seus efeitos, parecem ser fatores preponderantes para o grau de estresse oxidativo, o que promove um efeito somatório dentre os fatores estimuladores da produção de ERO.

Além de todos esses fatores que predispõe o obeso a maior produção de ERO do que sujeitos não obesos, eles parecem possuir a defesa antioxidante comprometida. Essa falha da defesa antioxidante tem sido reportada na literatura científica com base em dois aspectos principais. O primeiro é o baixo consumo de antioxidantes pela dieta e o segundo é a reduzida atividade das enzimas antioxidantes.

A ineficiência da defesa antioxidante provavelmente se inicia com a dieta de baixo consumo de antioxidantes e fitoquímicos que possuem capacidade antioxidante. Indivíduos obesos consomem poucos alimentos ricos em fitoquímicos (frutas, vegetais, grão integrais, legumes, vinho, óleo de oliva,

sementes e nozes) comparado com pessoas não obesas. O consumo de fitoquímicos é inversamente correlacionado com alta circunferência da cintura, alto IMC e peroxidação lipídica (TAYLOR e VINCENT, 2006). O nível de antioxidantes na dieta também é inversamente relacionado ao grau de adiposidade (REITMAN et al., 2002; WALLSTROM et al., 2001).

O baixo consumo de alimentos ricos em antioxidantes em sujeitos obesos tem sido documentado nos Estados Unidos, países da Europa, Nova Zelândia, Canadá, países da América do Sul e países Asiáticos. Esse baixo consumo ocorre mesmo quando produtos frescos e baratos são disponíveis. Sujeitos obesos assim apresentam um “déficit antioxidante” como o resultado do pobre consumo de antioxidantes (MASKARINEC; NOVOTNY; TASAKI, 2000; KREBS-SMITH et al., 1996; MATTEUCCI et al., 2005; CANOY et al., 2005; LAIRON et al., 2005; SCHODER et al., 2004; COOK et al., 2001; SHUBAIR; MCCOLL; HANNING, 2005; OLIVARES et al., 2004; TAJIMA et al., 2000; HARNROONGROJ et al., 2002 apud VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

Consequentemente, antioxidantes sanguíneos (carotenoides, vitaminas E e C) e minerais (zinco, selênio e magnésio) são consistentemente menores em obesos do que em não obesos, crianças e adultos (REITMAN et al., 2002; CANOY et al., 2005). O baixo nível de antioxidantes no sangue tem sido documentado em estudos de coorte na América, Europa, Índia e Ásia (MASKARINEC; NOVOTNY; TASAKI, 2000; KREBS-SMITH et al., 1996; MATTEUCCI et al., 2005; CANOY et al., 2005; LAIRON et al., 2005; SCHODER et al., 2004; COOK et al., 2001; SHUBAIR; MCCOLL; HANNING, 2005; OLIVARES et al., 2004; TAJIMA et al., 2000; HARNROONGROJ et al., 2002 apud VINCENT; INNES; VINCENT, 2007).

É importante salientar que as concentrações de vitaminas no plasma são progressivamente menores com aumentos do IMC, com os maiores obesos apresentado as menores concentrações de vitaminas. As concentrações séricas de β -caroteno, α -tocoferol e vitamina C são de 15 a 37% menores em obesos do que seus pares não obesos, apesar do semelhante consumo auto-reportado de frutas e vegetais. O nível de zinco é 38% menor em homens obesos do que seus pares magros (MOOR; WARTANOWICZ; ZIEMLANSKI, 1992; STRAUSS, 1999; OZATA et al., 2002).

Além disso, o IMC foi negativamente correlacionado com os níveis séricos de zeaxantina/luteína e β -criptoxantina, ambos carotenoides (SUZUKI et al., 2003). Um estudo longitudinal demonstrou que o IMC prediz os níveis séricos de carotenoides no curso de 7 anos, em um grupo de adultos jovens. Sujeitos obesos com IMC maior de 30 kg/m² tem uma concentração 22% menor da soma dos quatro carotenoides (α -caroteno, β -caroteno, zeaxantina/luteína e β -criptoxantina) comparado com sujeitos de IMC menor de 22 kg/m² (ANDERSEN et al., 2006).

O status antioxidante total (SAT) e o potencial antioxidante redutor do ferro (FRAP) têm sido utilizados como mensurações da capacidade antioxidante no plasma. Alguns estudos encontraram menores valores de SAT e FRAP em animais obesos do que em não obesos (LOPES et al., 2003; FENKCI et al., 2003; BELTOWSKI et al., 2000). Valores de SAT também foram menores em sujeitos obesos comparados com não obesos após alterações oxidativas promovidas por exercício aeróbio (VINCENT; MORGAN; VINCENT, 2004). Crianças com síndrome metabólica apresentam baixo TAS plasmático do que seus pares não obesos. Menores valores de SAT foram diretamente associados com níveis baixos de várias formas de carotenoides (MOLNAR; DECSI; KOLETZKO, 2004).

Além do baixo consumo de antioxidantes, a atividade enzimática antioxidante também pode estar inadequada na obesidade. Tem sido proposto que nos estágios iniciais da obesidade possa ocorrer uma elevação inicial na atividade das enzimas antioxidantes para neutralizar o estresse oxidativo, entretanto, com a exposição crônica, devido à obesidade não tratada, as fontes de enzimas antioxidantes vão continuamente sendo depletadas (OLUSI, 2002; VINCENT et al., 2001).

Em modelo animal de indução da obesidade pela dieta, a atividade da SOD e da GPx eritrocitárias foi de 29 a 42% menor em ratos alimentados com alto consumo calórico e alto consumo de gordura comparado com animais controles (BELTOWSKI et al., 2000). Já Olusi (2002) encontrou menor atividade da SOD eritrocitária em grandes obesos e menor atividade da GPx eritrocitária em obesos do que em controles não obesos. Similarmente, Ozata et al. (2002) reportaram uma atividade de 75 e 42% da SOD e GPx eritrocitárias, respectivamente, em homens obesos comparados com homens não obesos.

Todos esses fatores, relacionados acima, não são mutuamente excludentes. Mais do que isso, a obesidade pode envolver alguns ou todos esses fatores contribuindo para o estresse oxidativo sistêmico. Dependendo do indivíduo obeso, um fator pode exercer maior efeito oxidativo do que os outros, mas essa contribuição pode mudar quando do sujeito altera seu estado físico e metabólico.

Assim, resumidamente, pode-se concluir que o estresse oxidativo em sujeitos obesos decorre de uma maior produção de ERO e uma menor capacidade de defesa antioxidante. (Figura 4)



Figura 4: Resumo dos fatores que geram o estresse oxidativo em sujeitos com obesidade.
Fonte: do autor.

1.4 INTERCONEXÃO ENTRE ESTRESSE OXIDATIVO, INFLAMAÇÃO E OBESIDADE

Como descrito anteriormente a obesidade é marcada pela inflamação e pelo estresse oxidativo, ambos crônicos e sistêmicos. Evidentemente, a suposição de que exista uma interconexão entre estes dois estados metabólicos é natural, e estudos clínicos de sujeitos obesos já observaram a associação entre os níveis plasmáticos de adipocinas e marcadores da inflamação e/ou estresse oxidativo (VINCENT et al., 2009).

Além disso, os níveis de adipocinas pró-inflamatórias e da leptina foram fortemente correlacionados com os níveis de MDA em crianças pré-púberes (USTUNDAG et al., 2007). Em adolescentes de 12 a 15 anos obesos e diabéticos, a leptina, marcadores inflamatórios e a LDL oxidada estavam aumentados, sugerindo também uma via comum para complicações dessas duas condições (STRINGER et al., 2009). Ainda, um agravamento foi reportado no nível dos biomarcadores de estresse oxidativo e adipocinas com o aumento da obesidade, especialmente na presença de componentes da síndrome metabólica (KELLY et al., 2006).

Um estudo em crianças peripuberais suporta a noção da relação dose-dependência entre mensurações da obesidade (IMC e massa gorda) com biomarcadores de estresse oxidativo (8-isoprostano $F_{2\alpha}$) e inflamação (contagem de leucócitos e IL-6). As crianças desse estudo, entretanto, apresentavam dislipidemia e metabolismo alterado da glicose, o que poderia influenciar nos resultados (OLIVER et al., 2010). O estudo de Norris et al. (2011) demonstrou uma relação linear entre estresse oxidativo e inflamação através do espectro da obesidade.

Assim, o estresse oxidativo e a inflamação parecem estar interrelacionados sendo componentes de um ciclo vicioso da obesidade que resultará na síndrome metabólica. Alguns estudos tem tentado apontar um dos fatores como iniciador desse processo.

De acordo com Araki et al. (2010), a redução dos níveis de adiponectina de alto peso molecular, a forma biologicamente mais ativa, foi associada inversamente aos níveis de isoprostano e adiposidade visceral em crianças

japonesas obesas. Assim, a baixa produção de adiponectina, principalmente pelo aumento do tecido adiposo visceral pode ser um mecanismo chave ligando obesidade com estresse oxidativo. Ademais, a adiponectina pode ser um dos sinais primários da inflamação ligada à obesidade.

Contrariamente, Furukawa et al. (2004), propõe que elevados níveis de ácidos graxos aumentam o estresse oxidativo via ativação da NAPH oxidase e esse estresse oxidativo promove um desbalanço na produção de adipocinas, incluindo adiponectina, PAI-1, IL-6 e MCP-1.

Apesar de não haver um consenso sobre qual destes dois fatores iniciou a quebra da homeostase metabólica, há ainda a possibilidade de que os dois, conjuntamente, iniciem esse processo (Figura 5).

Consenso existe, entre os grupos líderes de pesquisa nesse campo, sobre o importante papel que é desempenhado pelos níveis de inflamação e estresse oxidativo subclínicos, os quais, de forma lenta e persistente, ocasionam danos a superfície endotelial, eventualmente resultando em rigidez, estreitamento e oclusão de artérias e vasos calibrosos em uma ampla gama de tecidos. Ademais, sabe-se que em indivíduos obesos, macrófagos ativados no TAB secretam ERO, e a resposta celular às citocinas pró-inflamatórias pode induzir mudanças no estado redox, o que sugere forte influencia da inflamação no aumento do estresse oxidativo e vice-versa (RUDICH et al., 2007).

Como a inflamação e o estresse oxidativo são processos muito extensos e complexos, abrangendo a ação coordenada de centenas e possivelmente milhares de mediadores celulares e moleculares, incluindo dezenas de subtipos de células imunes, centenas de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento e seus receptores e ligantes de proteínas, a localização dos mecanismos da influência de um sobre ou outro nem sempre é possível (TRAN et al., 2012).

Para adicionar mais uma camada de complicação, a maioria dos estudos conhecidos sobre a interação da desregulação metabólica e inflamação/estresse oxidativo são derivados de estudos com adultos e podem assim não ser aplicáveis a populações pediátricas, as quais o metabolismo altera rapidamente e repetidamente durante o crescimento e desenvolvimento (TRAN et al., 2012).

Os mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos nesta associação não estão completamente elucidados. Além disso, não há indícios científicos que

apontem a existência de um gatilho inicial para esse desarranjo metabólico apresentado pelo sujeito obeso. O que parece ser notório é que a obesidade gera a inflamação e o estresse oxidativo, que parecem se alimentar em um ciclo progressivo, que se não tratado, resultará no desenvolvimento das comorbidades e conseqüentemente a morte (Figura 5).

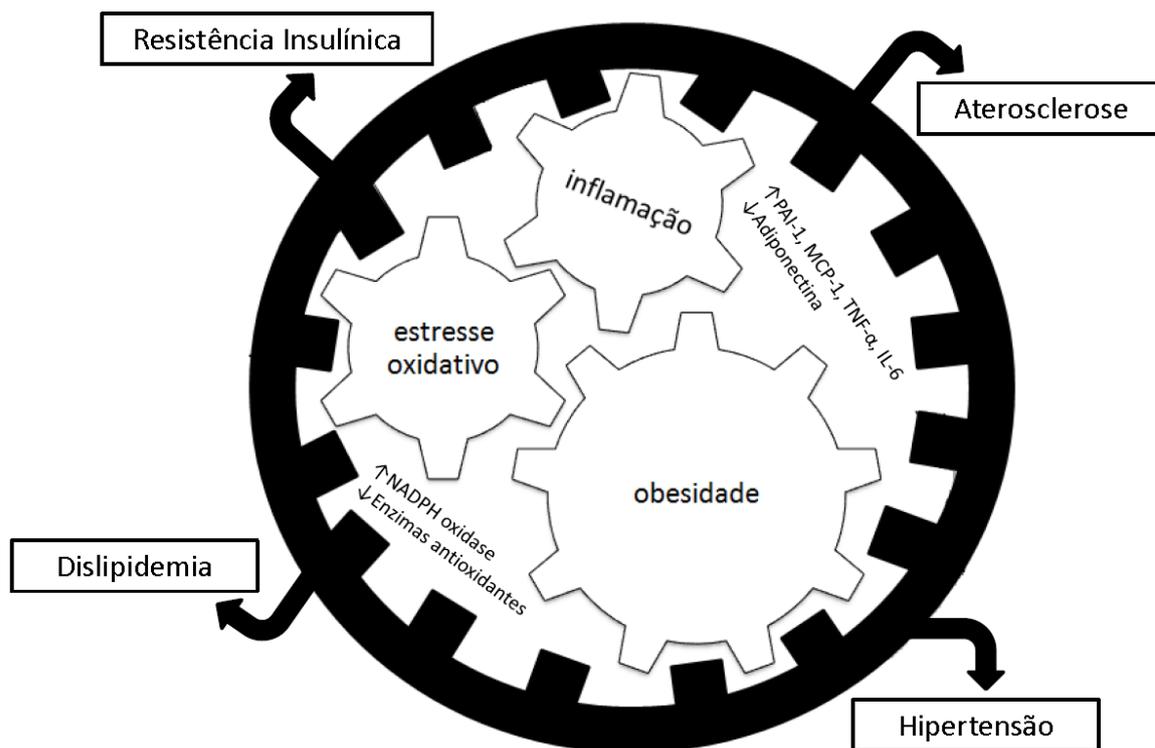


Fig. 5: Modelo explicativo da interconexão entre obesidade, estresse oxidativo e inflamação, gerando a síndrome metabólica.
Fonte: do autor.

Apesar disso, esse ciclo progressivo é interrompido quando são realizadas intervenções que reduzam os níveis de inflamação e estresse oxidativo, gerando um quadro de saúde mais estável, podendo até retornar aos padrões de normalidade.

1.5 TRATAMENTO MULTIDISCIPLINAR DA OBESIDADE

Pesquisas sobre a obesidade envolvendo diversas disciplinas têm permitido construir um emaranhado complexo de informações do ponto de vista biológico, social e psicológico. Privilegiar ou ignorar algum desses elementos resulta em uma inadequada compreensão e tratamento desta doença (GARCIA,

2004). Desta forma, os diferentes tipos de tratamento da obesidade (dieta, exercício físico, terapia comportamental, cirurgias e medicações), de maneira isolada, tem se mostrado inefetivos em crianças e adolescentes, justamente devido a complexidade de fatores envolvidos na manifestação desta doença. Isso faz com que o foco seja voltado para programas multidisciplinares, principalmente os que envolvem a família (FLODMARK et al., 2004).

Com isso, programas de tratamento multidisciplinares que incluem mudanças dietéticas, educação nutricional, mudanças no padrão de atividade física, modificações comportamentais e envolvimento dos pais, vêm sendo desenvolvidos no Brasil e no mundo. De acordo com Dâmaso et al. (2009), a inclusão do tratamento multidisciplinar nos serviços públicos e privados de saúde promoverá, em longo prazo, a redução da epidemia global, por meio da prevenção e controle da doença, reduzindo gastos com o tratamento das complicações.

O tratamento multidisciplinar, com a participação dos diferentes profissionais envolvidos na área da saúde, apresenta algumas vantagens em relação ao controle e redução da obesidade: a. diagnósticos mais completos e precisos; b. enfrentamento dos problemas psicossociais do paciente obeso; c. maior compreensão, por parte do obeso, da natureza complexa e dinâmica da obesidade, pois se utiliza de processos educativos direcionados ao paciente. Esses fatores facilitam o trabalho de cada um dos profissionais envolvidos no tratamento da obesidade e aumentam a probabilidade de sucesso no tratamento (GARCIA, 2004).

Alguns estudos apontam significativas melhoras quando o tratamento da obesidade é realizado por equipes multidisciplinares (DALTON, 1998; FRANK, 1998; VANSANT et al., 1999; SOTHERN, 1999). Os benefícios são atribuídos, principalmente, aos aspectos de educação e mudança do comportamento motor e alimentar, proporcionados pelos programas multidisciplinares.

O tempo de duração desse tratamento também tem sido alvo de investigação. Evidências apontam que o tratamento multidisciplinar necessita oferecer um suporte de longo prazo, pois nessa forma de intervenção, o acompanhamento dos fatores psicológicos é importante, e tratamentos curtos

aparentemente não promoverem mudanças comportamentais (FLODMARK et al., 1993; EPSTEIN et al., 1990; BRAET e VAN WINCKEL, 2000).

Por outro lado, no estudo realizado por Nemet et al. (2005), foi demonstrado que ambas intervenções multidisciplinares, de 3 meses e 1 ano, foram efetivas em reduzir a adiposidade corporal em crianças. O grupo que teve intervenção por um ano obteve resultados mais expressivos, porém, em três meses foram demonstradas reduções significativas no IMC e percentual de gordura, além de melhoras na aptidão física, entretanto, a intervenção de curto prazo não reduziu o tempo despendido em horas de TV e jogos eletrônicos, o que demonstra que não ocorreu mudança comportamental.

Apesar de não haver um número suficiente de estudos para afirmar que o tratamento multidisciplinar é mais efetivo do que outros tratamentos, tem sido demonstrado que o sucesso do tratamento está fortemente associado à prontidão para mudanças no estilo de vida (NIH, 1998; COOPER; FAIRBUM; HAWKER, 2004). E esta mudança no comportamento parece ser conseguida através da adoção de tratamentos que se utilizam da estratégia multidisciplinar.

1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, Marcelo M.; LAMOUNIER, Joel A.; COLOSIMO, Enrico A. Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes das regiões Sudeste e Nordeste. **Jornal de Pediatria**, v. 78, n. 4, p. 335-340, 2002.

AHIMA, Rexford S.; FLIER, Jeffrey S. Leptin. **Annual review of physiology**, v. 62, n. 1, p. 413-437, 2000.

ALBERT, Michelle A.; GLYNN, Robert J.; RIDKER, Paul M. Plasma concentration of C-reactive protein and the calculated Framingham Coronary Heart Disease Risk Score. **Circulation**, v. 108, n. 2, p. 161-165, 2003.

ANDERSEN, Lene Frost et al. Longitudinal associations between body mass index and serum carotenoids: the CARDIA study. **British journal of nutrition**, v. 95, n. 02, p. 358-365, 2006.

ANGELOPOULOU, Roxani; LAVRANOS, Giagkos; MANOLAKOU, Panagiota. ROS in the aging male: model diseases with ROS-related pathophysiology. **Reproductive Toxicology**, v. 28, n. 2, p. 167-171, 2009.

ARAKI, Shunsuke et al. Increased plasma isoprostane is associated with visceral fat, high molecular weight adiponectin, and metabolic complications in obese children. **European journal of pediatrics**, v. 169, n. 8, p. 965-970, 2010.

AVOGARO, Angelo; DE KREUTZENBERG, Saula Vigili. Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. **Clinica Chimica Acta**, v. 360, n. 1, p. 9-26, 2005.

BAEUERLE, Patrick A.; HENKEL, Thomas. Function and activation of NF-kappaB in the immune system. **Annual review of immunology**, v. 12, n. 1, p. 141-179, 1994.

BAKKER, Stephan JL et al. Cytosolic triglycerides and oxidative stress in central obesity: the missing link between excessive atherosclerosis, endothelial dysfunction, and β -cell failure?. **Atherosclerosis**, v. 148, n. 1, p. 17-21, 2000.

BAR-OR, Oded. A epidemia de obesidade juvenil: a atividade física é relevante. **Gatorade Sports Science Institute**, v. 38, 2003.

BASTARD, Jean-Philippe et al. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 87, n. 5, p. 2084-2089, 2002.

BASTARD, Jean-Philippe et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European cytokine network**, v. 17, n. 1, p. 4-12, 2006.

BASU, S. et al. Conjugated linoleic acid induces lipid peroxidation in men with abdominal obesity. **Clinical Science**, v. 99, n. 6, p. 511-516, 2000.

BAYNES, John W.; THORPE, Suzanne R. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. **Diabetes**, v. 48, n. 1, p. 1-9, 1999.

BEDARD, Karen; KRAUSE, Karl-Heinz. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. **Physiological reviews**, v. 87, n. 1, p. 245-313, 2007.

BELL, Lauren N. et al. A central role for hepatocyte growth factor in adipose tissue angiogenesis. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 294, n. 2, p. E336-E344, 2008.

BELLER, Anne Scott et al. **Fat and thin. A natural history of obesity**. Farrar, Straus and Giroux., 1977.

BELTOWSKI, J. G. D. A. et al. The effect of dietary-induced obesity on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and total plasma antioxidant capacity. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 51, n. 4, 2, 2000.

BEŁTOWSKI, Jerzy; WÓJCICKA, Grażyna; JAMROZ, Anna. Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. **Atherosclerosis**, v. 170, n. 1, p. 21-29, 2003.

BENAVENTE-GARCIA, O.; CASTILLO, J. Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory

activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6185-6205, 2008.

BLOCK, Gladys et al. Factors associated with oxidative stress in human populations. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, n. 3, p. 274-285, 2002.

BOULOUMIÉ, ANNE et al. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. **The FASEB Journal**, v. 13, n. 10, p. 1231-1238, 1999.

BRAET, Caroline; VAN WINCKEL, Myriam. Long-term follow-up of a cognitive behavioral treatment program for obese children. **Behavior Therapy**, v. 31, n. 1, p. 55-74, 2001.

BRAHIMI-HORN, M. Christiane; POUYSSÉGUR, Jacques. Oxygen, a source of life and stress. **FEBS letters**, v. 581, n. 19, p. 3582-3591, 2007.

BRASIER, Allan R.; RECINOS, Adrian; ELEDRISI, Mohsen S. Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 22, n. 8, p. 1257-1266, 2002.

BRAY, George A. Medical consequences of obesity. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2583-2589, 2004.

BRUUNSGAARD, Helle. Physical activity and modulation of systemic low-level inflammation. **Journal of leukocyte biology**, v. 78, n. 4, p. 819-835, 2005.

BRÜUNSGAARD, Helle; PEDERSEN, Bente Klarlund. Age-related inflammatory cytokines and disease. **Immunology and allergy clinics of North America**, v. 23, n. 1, p. 15-39, 2003.

BYNUM, Caroline Walker. **Holy feast and holy fast: The religious significance of food to medieval women**. Univ of California Press, 1987.

CAI, Hua; HARRISON, David G. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. **Circulation research**, v. 87, n. 10, p. 840-844, 2000.

CALANDRA, Thierry et al. MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. **Nature**, v. 377, n. 6544, p. 68-71, 1995.

CANCELLO, Raffaella et al. Reduction of macrophage infiltration and chemoattractant gene expression changes in white adipose tissue of morbidly obese subjects after surgery-induced weight loss. **Diabetes**, v. 54, n. 8, p. 2277-2286, 2005.

CANOY, Dexter et al. Plasma ascorbic acid concentrations and fat distribution in 19 068 British men and women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Norfolk cohort study. **The American journal of clinical nutrition**, v. 82, n. 6, p. 1203-1209, 2005.

CHARRIÈRE, Guillaume et al. Preadipocyte conversion to macrophage Evidence of plasticity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 11, p. 9850-9855, 2003.

CHRISTIANSEN, Tore; RICHELSEN, Bjørn; BRUUN, J. M. Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. **International journal of obesity**, v. 29, n. 1, p. 146-150, 2005.

CINTI, Saverio et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. **Journal of lipid research**, v. 46, n. 11, p. 2347-2355, 2005.

CLEMENT, Karine et al. Weight loss regulates inflammation-related genes in white adipose tissue of obese subjects. **The FASEB Journal**, v. 18, n. 14, p. 1657-1669, 2004.

CODOÑER-FRANCH, Pilar et al. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. **Translational Research**, v. 158, n. 6, p. 369-384, 2011.

CODOÑER-FRANCH, Pilar et al. Oxidative markers in children with severe obesity following low-calorie diets supplemented with mandarin juice. **Acta Paediatrica**, v. 99, n. 12, p. 1841-1846, 2010.

CONSIDINE, Robert V. et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 5, p. 292-295, 1996.

CONSTANTIN, Alina et al. Effects of ageing on carbonyl stress and antioxidant defense in RBCs of obese Type 2 diabetic patients. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 9, n. 3, p. 683-691, 2005.

COOK, Christine; SWINBURN, Boyd; STEWART, J. Changing risk behaviours for non-communicable disease in New Zealand working men-is workplace intervention effective?. **New Zealand Medical Journal**, v. 114, n. 1130, p. 175-178, 2001.

COOPER, Zafra; FAIRBURN, Christopher G.; HAWKER, Deborah M. **Cognitive-behavioral treatment of obesity: A clinician's guide**. Guilford Press, 2004.

COUILLARD, Charles et al. Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 12, p. 6454-6459, 2005.

COUSIN, Béatrice et al. A role for preadipocytes as macrophage-like cells. **The FASEB Journal**, v. 13, n. 2, p. 305-312, 1999.

CURAT, Cyrille A. et al. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages induction of diapedesis by human mature adipocytes. **Diabetes**, v. 53, n. 5, p. 1285-1292, 2004.

DALTON, SHARRON. The dietitians' philosophy and practice in multidisciplinary weight management. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 98, n. 10, p. S49-S54, 1998.

DAMASO, A.R. *Obesidade*. 2ed. Guanabara Koogan, 2009.

DANDONA, Paresh et al. Angiotensin II receptor blocker valsartan suppresses reactive oxygen species generation in leukocytes, nuclear factor- κ B, in mononuclear cells of normal subjects: evidence of an antiinflammatory action. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 9, p. 4496-4501, 2003.

DANDONA, Paresh et al. Macronutrient intake induces oxidative and inflammatory stress: potential relevance to atherosclerosis and insulin resistance. **Experimental & molecular medicine**, v. 42, n. 4, p. 245-253, 2010.

DANDONA, Paresh et al. The Suppressive Effect of Dietary Restriction and Weight Loss in the Obese on the Generation of Reactive Oxygen Species by Leukocytes, Lipid Peroxidation, and Protein Carbonylation 1. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 86, n. 1, p. 355-362, 2001.

DAVÌ, Giovanni et al. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. **Jama**, v. 288, n. 16, p. 2008-2014, 2002.

DE ORÇAMENTOS FAMILIARES, IBGE Pesquisa. Familiares 2008-2009: despesas, rendimentos e condições de vida. **Rio de Janeiro: IBGE**, 2010.

DEMMIG-ADAMS, Barbara; ADAMS III, William W. Overview of diet-gene interactions and the example of xanthophylls. In: **Bio-Farms for Nutraceuticals**. Springer US, 2010. p. 17-26.

DOBRIAN, Anca D. et al. Development of hypertension in a rat model of diet-induced obesity. **Hypertension**, v. 35, n. 4, p. 1009-1015, 2000.

DUBLIN, Louis Israel et al. Twenty-Five Years of Health Progress. A Study of the Mortality Experience among the Industrial Policy-holders of the Metropolitan Life Insurance Company 1911 to 1935. **Twenty-Five Years of Health Progress. A Study of the Mortality Experience among the Industrial Policy-holders of the Metropolitan Life Insurance Company 1911 to 1935.**, 1937.

EGAN, Brent M.; GREENE, Eddie L.; GOODFRIEND, Theodore L. Insulin resistance and cardiovascular disease. **American journal of hypertension**, v. 14, n. S3, p. 116S-125S, 2001.

EKNOYAN, Garabed. A history of obesity, or how what was good became ugly and then bad. **Advances in chronic kidney disease**, v. 13, n. 4, p. 421-427, 2006.

ENGSTRÖM, Gunnar et al. Inflammation-sensitive plasma proteins are associated with future weight gain. **Diabetes**, v. 52, n. 8, p. 2097-2101, 2003.

EPSTEIN, Leonard H. et al. Ten-year follow-up of behavioral, family-based treatment for obese children. **Jama**, v. 264, n. 19, p. 2519-2523, 1990.

ESPOSITO, Katherine et al. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. **Jama**, v. 289, n. 14, p. 1799-1804, 2003.

FAGGIONI, RAFFAELLA; FEINGOLD, KENNETH R.; GRUNFELD, CARL. Leptin regulation of the immune response and the immunodeficiency of malnutrition. **The FASEB Journal**, v. 15, n. 14, p. 2565-2571, 2001.

FAIN, John N. et al. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. **Endocrinology**, v. 145, n. 5, p. 2273-2282, 2004.

FARBSTEIN, Dan; KOZAK-BLICKSTEIN, Adena; LEVY, Andrew P. Antioxidant vitamins and their use in preventing cardiovascular disease. **Molecules**, v. 15, n. 11, p. 8098-8110, 2010.

FENKCI, Veysel et al. Decreased total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. **Fertility and sterility**, v. 80, n. 1, p. 123-127, 2003.

FERNANDEZ, A. C. et al. Respostas metabólicas e cardiorrespiratórias ao exercício máximo e submáximo em meninas eutróficas e com desnutrição pregressa. **Rev Ass Med Brasil**, v. 46, n. 4, p. 312-9, 2000.

FERRARA, Napoleone; KERBEL, Robert S. Angiogenesis as a therapeutic target. **Nature**, v. 438, n. 7070, p. 967-974, 2005.

FERRETTI, G. et al. Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 90, n. 3, p. 1728-1733, 2005.

FLODMARK, Carl-Erik et al. New insights into the field of children and adolescents' obesity: the European perspective. **International journal of obesity**, v. 28, n. 10, p. 1189-1196, 2004.

FLODMARK, Carl-Erik et al. Prevention of progression to severe obesity in a group of obese schoolchildren treated with family therapy. **Pediatrics**, v. 91, n. 5, p. 880-884, 1993.

FLYNN, Tom. **The body in three dimensions**. Harry N. Abrams, Incorporated, 1998.

FOGEL, Robert William. **The escape from hunger and premature death, 1700-2100: Europe, America, and the Third World**. Cambridge University Press, 2004.

FORD, Earl S. The metabolic syndrome and C-reactive protein, fibrinogen, and leukocyte count: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Atherosclerosis**, v. 168, n. 2, p. 351-358, 2003.

FRANK, Arthur. A multidisciplinary approach to obesity management: the physician's role and team care alternatives. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 98, n. 10, p. S44-S48, 1998.

FRIED, Susan K.; BUNKIN, Dove A.; GREENBERG, Andrew S. Omental and Subcutaneous Adipose Tissues of Obese Subjects Release Interleukin-6: Depot Difference and Regulation by Glucocorticoid 1. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 83, n. 3, p. 847-850, 1998.

FRISBEE, Jefferson C.; MAIER, Kristopher G.; STEPP, David W. Oxidant stress-induced increase in myogenic activation of skeletal muscle resistance arteries in obese Zucker rats. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 283, n. 6, p. H2160-H2168, 2002.

FURUKAWA, Shigetada et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 12, p. 1752-1761, 2004.

GAO, Chun-Lin et al. Mitochondrial dysfunction is induced by high levels of glucose and free fatty acids in 3T3-L1 adipocytes. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 320, n. 1, p. 25-33, 2010.

GARCÍA, Eduardo García. ¿ En qué consiste el tratamiento multidisciplinario de la obesidad?. **Revista de Endocrinología y Nutrición**, v. 12, n. 4 Supl 3, p. S148-S151, 2004.

GARG, Rajesh et al. Troglitazone reduces reactive oxygen species generation by leukocytes and lipid peroxidation and improves flow-mediated vasodilatation in obese subjects. **Hypertension**, v. 36, n. 3, p. 430-435, 2000.

GHANIM, Husam et al. Orange juice or fructose intake does not induce oxidative and inflammatory response. **Diabetes care**, v. 30, n. 6, p. 1406-1411, 2007.

GLADWELL, Malcolm. The pima paradox. **The New Yorker**, v. 2, p. 44-57, 1998.

GOMES, Valéria A. et al. Enhanced concentrations of relevant markers of nitric oxide formation after exercise training in patients with metabolic syndrome. **Nitric Oxide**, v. 19, n. 4, p. 345-350, 2008.

GOOSSENS, G. H. et al. Angiotensin II-induced effects on adipose and skeletal muscle tissue blood flow and lipolysis in normal-weight and obese subjects. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 89, n. 6, p. 2690-2696, 2004.

GORDON, Siamon. Alternative activation of macrophages. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, n. 1, p. 23-35, 2003.

GUERRINI, Anita. **Obesity and depression in the Enlightenment: The life and times of George Cheyne**. University of Oklahoma Press, 2000.

HADJIGOGOS, K. The role of free radicals in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. **Panminerva medica**, v. 45, n. 1, p. 7-13, 2003.

HALLIWELL, Barry. Reactive oxygen species and the central nervous system. In: **Free Radicals in the Brain**. Springer Berlin Heidelberg, 1992. p. 21-40.

HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, JMe. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in enzymology**, v. 186, p. 1-85, 1989.

HARNROONGROJ, Talabporn et al. B vitamins, vitamin C and hematological measurements in overweight and obese Thais in Bangkok. **Journal of the Medical Association of Thailand= Chotmaihet thangphaet**, v. 85, n. 1, p. 17-25, 2002.

HARVEY, C. J. et al. Nrf2-regulated glutathione recycling independent of biosynthesis is critical for cell survival during oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 46, n. 4, p. 443-453, 2009.

HIGDON, Jane V.; FREI, Balz. Obesity and Oxidative Stress A Direct Link to CVD?. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 23, n. 3, p. 365-367, 2003.

HOSOGAI, Naomi et al. Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. **Diabetes**, v. 56, n. 4, p. 901-911, 2007.

HOTAMISLIGIL, Gokhan S.; SHARGILL, Narinder S.; SPIEGELMAN, Bruce M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. **Science**, v. 259, n. 5091, p. 87-91, 1993.

INABA, Toshimori et al. Enhanced expression of platelet-derived growth factor- β receptor by high glucose involvement of platelet-derived growth factor in diabetic angiopathy. **Diabetes**, v. 45, n. 4, p. 507-512, 1996.

INOUCHI, Toyoshi et al. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD (P) H oxidase in cultured vascular cells. **Diabetes**, v. 49, n. 11, p. 1939-1945, 2000.

JANSSON, P. A. E.; LARSSON, A.; LÖNNROTH, P. N. Relationship between blood pressure, metabolic variables and blood flow in obese subjects with or without non-insulin-dependent diabetes mellitus. **European journal of clinical investigation**, v. 28, p. 813-818, 1998.

KADOWAKI, Takashi; YAMAUCHI, Toshimasa. Adiponectin and adiponectin receptors. **Endocrine reviews**, v. 26, n. 3, p. 439-451, 2005.

KAMINSKI, Karol A. et al. Oxidative stress and neutrophil activation—the two keystones of ischemia/reperfusion injury. **International journal of cardiology**, v. 86, n. 1, p. 41-59, 2002.

KARAMOUZIS, I. et al. Enhanced oxidative stress and platelet activation combined with reduced antioxidant capacity in obese prepubertal and adolescent girls with full or partial metabolic syndrome. **Hormone and metabolic research**, v. 43, n. 09, p. 607-613, 2011.

KARPE, Fredrik et al. Impaired postprandial adipose tissue blood flow response is related to aspects of insulin sensitivity. **Diabetes**, v. 51, n. 8, p. 2467-2473, 2002.

KEANEY, John F. et al. Obesity and systemic oxidative stress clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 23, n. 3, p. 434-439, 2003.

KELLY, Aaron S. et al. Oxidative stress and adverse adipokine profile characterize the metabolic syndrome in children. **Journal of the Cardiometabolic syndrome**, v. 1, n. 4, p. 248-252, 2006.

KOISTINEN, H. A. et al. Subcutaneous adipose tissue expression of tumour necrosis factor- α is not associated with whole body insulin resistance in obese nondiabetic or in type-2 diabetic subjects. **European journal of clinical investigation**, v. 30, n. 4, p. 302-310, 2000.

KONUKOĞLU, Dildar et al. Plasma homocysteine levels in obese and non-obese subjects with or without hypertension; its relationship with oxidative stress and copper. **Clinical biochemistry**, v. 36, n. 5, p. 405-408, 2003.

KOONG, Albert C. et al. Candidate genes for the hypoxic tumor phenotype. **Cancer research**, v. 60, n. 4, p. 883-887, 2000.

KREBS-SMITH, Susan M. et al. Fruit and vegetable intakes of children and adolescents in the United States. **Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine**, v. 150, n. 1, p. 81, 1996.

KULLO, Iftikhar J.; HENSRUD, Donald D.; ALLISON, Thomas G. Comparison of numbers of circulating blood monocytes in men grouped by body mass index (< 25, 25 to < 30, \geq 30). **The American journal of cardiology**, v. 89, n. 12, p. 1441-1443, 2002.

LAIRO, Denis et al. Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. **The American journal of clinical nutrition**, v. 82, n. 6, p. 1185-1194, 2005.

LIHN, Aina S. et al. Lower expression of adiponectin mRNA in visceral adipose tissue in lean and obese subjects. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 219, n. 1, p. 9-15, 2004.

LIPINSKI, Boguslaw. Pathophysiology of oxidative stress in diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 15, n. 4, p. 203-210, 2001.

LOFFREDA, S. et al. Leptin regulates proinflammatory immune responses. **The FASEB Journal**, v. 12, n. 1, p. 57-65, 1998.

LOPES, Heno F. et al. DASH diet lowers blood pressure and lipid-induced oxidative stress in obesity. **Hypertension**, v. 41, n. 3, p. 422-430, 2003.

LORD, Graham M. et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. **Nature**, v. 394, n. 6696, p. 897-901, 1998.

LUC, Gérald et al. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease The PRIME study. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, v. 23, n. 7, p. 1255-1261, 2003.

LUMENG, Carey N. et al. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 1, p. 175-184, 2007.

MAACHI, M. et al. Systemic low-grade inflammation is related to both circulating and adipose tissue TNF α , leptin and IL-6 levels in obese women. **International journal of obesity**, v. 28, n. 8, p. 993-997, 2004.

MAINGRETTE, Fritz; RENIER, Geneviève. Leptin increases lipoprotein lipase secretion by macrophages: involvement of oxidative stress and protein kinase C. **Diabetes**, v. 52, n. 8, p. 2121-2128, 2003.

MAKOWSKI, Liza et al. Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. **Nature medicine**, v. 7, n. 6, p. 699-705, 2001.

MALHOTRA, Jyoti D. et al. Antioxidants reduce endoplasmic reticulum stress and improve protein secretion. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 47, p. 18525-18530, 2008.

MALHOTRA, Jyoti D.; KAUFMAN, Randal J. Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword?. **Antioxidants & redox signaling**, v. 9, n. 12, p. 2277-2294, 2007.

MANTOVANI, Alberto et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. **Trends in immunology**, v. 25, n. 12, p. 677-686, 2004.

MARITIM, A. C.; SANDERS, R. A.; WATKINS, 3rd JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 17, n. 1, p. 24-38, 2003.

MASKARINEC, Gertraud; NOVOTNY, Rachel; TASAKI, Katsuya. Dietary patterns are associated with body mass index in multiethnic women. **The Journal of nutrition**, v. 130, n. 12, p. 3068-3072, 2000.

MATTEUCCI, E. et al. Dietary habits and nutritional biomarkers in Italian type 1 diabetes families: evidence of unhealthy diet and combined-vitamin-deficient intakes. **European journal of clinical nutrition**, v. 59, n. 1, p. 114-122, 2005.

MEAD, Rebecca. Slim for him: God is watching what you're eating. **New Yorker**, p. 48, 2001.

MICHIELS, Carine et al. Regulation of gene expression by oxygen: NF- κ B and HIF-1, two extremes. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 33, n. 9, p. 1231-1242, 2002.

MINET, E. et al. Transduction pathways involved in hypoxia-inducible factor-1 phosphorylation and activation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 31, n. 7, p. 847-855, 2001.

MOE, K. T. et al. Differential upregulation of Nox homologues of NADPH oxidase by tumor necrosis factor- α in human aortic smooth muscle and embryonic kidney cells. **Journal of cellular and molecular medicine**, v. 10, n. 1, p. 231-239, 2006.

MOHAMED-ALI, V. et al. Subcutaneous Adipose Tissue Releases Interleukin-6, But Not Tumor Necrosis Factor- α , in Vivo 1. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 82, n. 12, p. 4196-4200, 1997.

MOKDAD, Ali H. et al. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. **Jama**, v. 289, n. 1, p. 76-79, 2003.

MOLNAR, D.; DECSI, T.; KOLETZKO, B. Reduced antioxidant status in obese children with multimetabolic syndrome. **International journal of obesity**, v. 28, n. 10, p. 1197-1202, 2004.

MOOR, de Burgos A.; WARTANOWICZ, M.; ZIEMLAŃSKI, S. Blood vitamin and lipid levels in overweight and obese women. **European journal of clinical nutrition**, v. 46, n. 11, p. 803-808, 1992.

MOSCA, Lori. C-reactive protein—to screen or not to screen?. **N Engl J Med**, v. 347, n. 20, 2002.

MÜNZEL, Thomas et al. Effects of long-term nitroglycerin treatment on endothelial nitric oxide synthase (NOS III) gene expression, NOS III-mediated superoxide production, and vascular NO bioavailability. **Circulation research**, v. 86, n. 1, p. e7-e12, 2000.

NAGY, Laszlo et al. Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPAR γ . **Cell**, v. 93, n. 2, p. 229-240, 1998.

NEMET, Dan et al. Short-and long-term beneficial effects of a combined dietary–behavioral–physical activity intervention for the treatment of childhood obesity. **Pediatrics**, v. 115, n. 4, p. e443-e449, 2005.

NESSE, Randolph M. *Evolution and healing: The new science of Darwinian medicine*. 1996.

NISHIKAWA, Takeshi et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. **Nature**, v. 404, n. 6779, p. 787-790, 2000.

NONOGAKI, KATSUNORI et al. Interleukin-6 stimulates hepatic triglyceride secretion in rats. **Endocrinology**, v. 136, n. 5, p. 2143-2149, 1995.

NORRIS, Anne L. et al. Circulating oxidized LDL and inflammation in extreme pediatric obesity. **Obesity**, v. 19, n. 7, p. 1415-1419, 2011.

NUNN, Alistair VW; GUY, Geoffrey W.; BELL, Jimmy D. Endocannabinoids, FOXO and the metabolic syndrome: redox, function and tipping point–the view from two systems. **Immunobiology**, v. 215, n. 8, p. 617-628, 2010.

O'ROURKE, R. W. et al. Hypoxia-induced inflammatory cytokine secretion in human adipose tissue stromovascular cells. **Diabetologia**, v. 54, n. 6, p. 1480-1490, 2011.

OGDEN, Cynthia L. et al. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. **Jama**, v. 295, n. 13, p. 1549-1555, 2006.

OLIVARES, S. et al. Nutritional status, food consumption and physical activity among Chilean school children: a descriptive study. **European journal of clinical nutrition**, v. 58, n. 9, p. 1278-1285, 2004.

OLIVER, Stacy R. et al. Increased oxidative stress and altered substrate metabolism in obese children. **International Journal of Pediatric Obesity**, v. 5, n. 5, p. 436-444, 2010.

OLUSI, S. O. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. **International Journal of Obesity & Related Metabolic Disorders**, v. 26, n. 9, 2002.

O'ROURKE, Lisa et al. Glucose-dependent regulation of cholesterol ester metabolism in macrophages by insulin and leptin. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 45, p. 42557-42562, 2002.

OSLER, William. **The principles and practice of medicine**. Birmingham, AL, Classics of Medicine Library, 1978.

OUCHI, Noriyuki et al. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF- κ B signaling through a cAMP-dependent pathway. **Circulation**, v. 102, n. 11, p. 1296-1301, 2000.

OZATA, Metin et al. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. **Clinical biochemistry**, v. 35, n. 8, p. 627-631, 2002.

PANEL, NHLBI Obesity Education Initiative Expert et al. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. 1998.

PANG, Can et al. Macrophage infiltration into adipose tissue may promote angiogenesis for adipose tissue remodeling in obesity. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 295, n. 2, p. E313, 2008.

PAPANDREOU, Ioanna et al. HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulating mitochondrial oxygen consumption. **Cell metabolism**, v. 3, n. 3, p. 187-197, 2006.

PATEL, Chinmay et al. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor- κ B activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 92, n. 11, p. 4476-4479, 2007.

PATSOURIS, David et al. Ablation of CD11c-positive cells normalizes insulin sensitivity in obese insulin resistant animals. **Cell metabolism**, v. 8, n. 4, p. 301-309, 2008.

RAJAGOPALAN, Sanjay et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. **Journal of Clinical Investigation**, v. 97, n. 8, p. 1916, 1996.

REITMAN, Alla et al. Low plasma antioxidants and normal plasma B vitamins and homocysteine in patients with severe obesity. **IMAJ-RAMAT GAN-**, v. 4, n. 8, p. 590-593, 2002.

REPACI, Andrea; GAMBINERI, Alessandra; PASQUALI, Renato. The role of low-grade inflammation in the polycystic ovary syndrome. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 335, n. 1, p. 30-41, 2011.

RIDKER, Paul M. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 363-369, 2003.

RIDKER, Paul M. et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. **New England Journal of Medicine**, v. 336, n. 14, p. 973-979, 1997.

RISÉRUS, Ulf et al. Effects of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid supplementation on insulin sensitivity, lipid peroxidation, and proinflammatory markers in obese men. **The American journal of clinical nutrition**, v. 80, n. 2, p. 279-283, 2004.

RIZZO, Angela Maria et al. Endogenous antioxidants and radical scavengers. In: **Bio-Farms for Nutraceuticals**. Springer US, 2010. p. 52-67.

ROBERTS, Ruth A. et al. Toxicological and pathophysiological roles of reactive oxygen and nitrogen species. **Toxicology**, v. 276, n. 2, p. 85-94, 2010.

ROSEN, Barry S. et al. Adipsin and complement factor D activity: an immune-related defect in obesity. **Science**, v. 244, n. 4911, p. 1483-1487, 1989.

RUDICH, Assaf; KANETY, Hannah; BASHAN, Nava. Adipose stress-sensing kinases: linking obesity to malfunction. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 18, n. 8, p. 291-299, 2007.

RUSSELL, Aaron P. et al. Lipid peroxidation in skeletal muscle of obese as compared to endurance-trained humans: a case of good vs. bad lipids?. **FEBS letters**, v. 551, n. 1, p. 104-106, 2003.

RYAN, Alice S.; NICKLAS, Barbara J. Reductions in plasma cytokine levels with weight loss improve insulin sensitivity in overweight and obese postmenopausal women. **Diabetes Care**, v. 27, n. 7, p. 1699-1705, 2004.

SAILLAN-BARREAU, Cousin et al. Human adipose cells as candidates in defense and tissue remodeling phenomena. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 309, n. 3, p. 502-505, 2003.

SCHIFFRIN, Ernesto L. Beyond blood pressure: the endothelium and atherosclerosis progression*. **American journal of hypertension**, v. 15, n. S5, p. 115S-122S, 2002.

SCHRÖDER, Helmut et al. Adherence to the traditional Mediterranean diet is inversely associated with body mass index and obesity in a Spanish population. **The Journal of nutrition**, v. 134, n. 12, p. 3355-3361, 2004.

SCHULZE, P. Christian; LEE, Richard T. Oxidative stress and atherosclerosis. **Current atherosclerosis reports**, v. 7, n. 3, p. 242-248, 2005.

SCHWARTZ, Hillel. Never satisfied: A cultural history of diets, fantasies, and fat. 1986.

SEIDELL, J. C. Obesity: a growing problem. **Acta Paediatrica**, v. 88, n. s428, p. 46-50, 1999.

SEMENZA, Gregg L. et al. Hypoxia, HIF-1, and the Pathophysiology of Common Human Diseases. In: **Oxygen Sensing**. Springer US, 2002. p. 123-130.

SEMENZA, Gregg L. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. **Journal of applied physiology**, v. 88, n. 4, p. 1474-1480, 2000.

SEMENZA, Gregg L. Signal transduction to hypoxia-inducible factor 1. **Biochemical pharmacology**, v. 64, n. 5, p. 993-998, 2002.

SHIBATA, Rei et al. Adiponectin stimulates angiogenesis in response to tissue ischemia through stimulation of amp-activated protein kinase signaling. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 27, p. 28670-28674, 2004.

SHUBAIR, Mamdouh M.; MCCOLL, R. Stephen; HANNING, Rhona M. Mediterranean dietary components and body mass index in adults: the peel nutrition and heart health survey. **Chronic Dis Can**, v. 26, n. 2-3, p. 43-51, 2005.

SIDNEY BURWELL, C. et al. Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation—a Pickwickian syndrome. **The American journal of medicine**, v. 21, n. 5, p. 811-818, 1956.

SIERRA-HONIGMANN, M. Rocío et al. Biological action of leptin as an angiogenic factor. **Science**, v. 281, n. 5383, p. 1683-1686, 1998.

ŠKRHA, J. et al. Insulin action and fibrinolysis influenced by vitamin E in obese type 2 diabetes mellitus. **Diabetes research and clinical practice**, v. 44, n. 1, p. 27-33, 1999.

SOTHERN, Melinda S. et al. Inclusion of resistance exercise in a multidisciplinary outpatient treatment program for preadolescent obese children. **Southern medical journal**, v. 92, n. 6, p. 585-592, 1999.

SOUKAS, Alexander et al. Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. **Genes & development**, v. 14, n. 8, p. 963-980, 2000.

STELLA, Sérgio G. et al. Estudo comparativo das capacidades aeróbia e anaeróbia de adolescentes com obesidade severa da cidade de São Paulo. **Rev. Bras. Ciên. e Mov. Brasília** v. 11, n. 1, p. 23-28, 2003.

STOJILJKOVIC, Milos P. et al. Increasing plasma fatty acids elevates F2-isoprostanes in humans: implications for the cardiovascular risk factor cluster. **Journal of hypertension**, v. 20, n. 6, p. 1215-1221, 2002.

STRAUSS, Richard S. Comparison of serum concentrations of α -tocopherol and β -carotene in a cross-sectional sample of obese and nonobese children (NHANES III). **The Journal of pediatrics**, v. 134, n. 2, p. 160-165, 1999.

STRINGER, Danielle M. et al. Altered plasma adipokines and markers of oxidative stress suggest increased risk of cardiovascular disease in First Nation youth with obesity or type 2 diabetes mellitus. **Pediatric diabetes**, v. 10, n. 4, p. 269-277, 2009.

SUEMATSU, Mina et al. Decreased circulating levels of active ghrelin are associated with increased oxidative stress in obese subjects. **European journal of endocrinology**, v. 153, n. 3, p. 403-407, 2005.

SUMMERS, Lucinda KM et al. Subcutaneous abdominal adipose tissue blood flow: variation within and between subjects and relationship to obesity. **Clinical Science**, v. 91, n. Pt 6, p. 679-683, 1996.

SUN, Mingxiao et al. Rac1 is a possible link between obesity and oxidative stress in Chinese overweight adolescents. **Obesity**, v. 20, n. 11, p. 2233-2240, 2012.

SUZUKI, Koji et al. Relationship between obesity and serum markers of oxidative stress and inflammation in Japanese. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 4, n. 3, p. 259-266, 2003.

TAJIMA, Kazuo et al. A model of practical cancer prevention for out-patients visiting a hospital: the Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC). **Asian Pac J Cancer Prev**, v. 1, n. 1, p. 35-47, 2000.

TALIOR, Ilana et al. Increased glucose uptake promotes oxidative stress and PKC- δ activation in adipocytes of obese, insulin-resistant mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism**, v. 285, n. 2, p. E295-E302, 2003.

TAYLOR, A. G.; VINCENT, H. K.; BOURGUIGNON, C. M. Inflammation and oxidative stress are associated with a novel dietary "Phytochemical Index" in obese young adults. In: **North American Research Conference on Complementary and Alternative Medicine May**. 2006. p. 24-27.

TCHOUKALOVA, Yourka D.; SARR, Michael G.; JENSEN, Michael D. Measuring committed preadipocytes in human adipose tissue from severely obese patients by using adipocyte fatty acid binding protein. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 287, n. 5, p. R1132-R1140, 2004.

TILG, Herbert et al. Cytokines and liver diseases. **Canadian journal of gastroenterology= Journal canadien de gastroenterologie**, v. 15, n. 10, p. 661-668, 2001.

TILG, Herbert; MOSCHEN, A. Role of adiponectin and PBEF/visfatin as regulators of inflammation: involvement in obesity-associated diseases. **Clinical science**, v. 114, p. 275-288, 2008.

TRAN, Brian et al. Aspects of inflammation and oxidative stress in pediatric obesity and type 1 diabetes: an overview of ten years of studies. **Experimental diabetes research**, v. 2012, 2012.

TU, Benjamin P.; WEISSMAN, Jonathan S. Oxidative protein folding in eukaryotes mechanisms and consequences. **The Journal of cell biology**, v. 164, n. 3, p. 341-346, 2004.

URAKAWA, Hideki et al. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n. 10, p. 4673-4676, 2003.

USTUNDAG, Bilal et al. Oxidative status and serum leptin levels in obese prepubertal children. **Cell biochemistry and function**, v. 25, n. 5, p. 479-483, 2007.

UYSAL, K. Teoman et al. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. **Nature**, v. 389, n. 6651, p. 610-614, 1997.

UZUN, Hafize et al. Changes in leptin, plasminogen activator factor and oxidative stress in morbidly obese patients following open and laparoscopic Swedish adjustable gastric banding. **Obesity surgery**, v. 14, n. 5, p. 659-665, 2004.

VALDECANTOS, M. Pilar et al. Vitamin C, resveratrol and lipoic acid actions on isolated rat liver mitochondria: all antioxidants but different. **Redox Report**, v. 15, n. 5, p. 207-216, 2010.

VAN DIELEN, F. M. H. et al. Increased leptin concentrations correlate with increased concentrations of inflammatory markers in morbidly obese individuals. **International Journal of Obesity & Related Metabolic Disorders**, v. 25, n. 12, 2001.

VAN GAAL, Luc F.; VERTOMMEN, Jan; DE LEEUW, Ivo H. The in vitro oxidizability of lipoprotein particles in obese and non-obese subjects. **Atherosclerosis**, v. 137, p. S39-S44, 1998.

VAN STAVEREN, W. A.; DE BOER, J. O.; BUREMA, J. Validity and reproducibility of a dietary history method estimating the usual food intake during one month. **The American journal of clinical nutrition**, v. 42, n. 3, p. 554-559, 1985.

VANSANT, G. et al. A multidisciplinary approach to the treatment of obesity. **International Journal of Obesity & Related Metabolic Disorders**, v. 23, 1999.

VINCENT, H. K. et al. Mechanism for obesity-induced increase in myocardial lipid peroxidation. **International Journal of Obesity & Related Metabolic Disorders**, v. 25, n. 3, 2001.

VINCENT, Heather K. et al. Effects of antioxidant supplementation on insulin sensitivity, endothelial adhesion molecules, and oxidative stress in normal-weight and overweight young adults. **Metabolism**, v. 58, n. 2, p. 254-262, 2009.

VINCENT, Heather K. et al. Obesity and postexercise oxidative stress in older women. **Med Sci Sports Exerc**, v. 37, n. 2, p. 213-219, 2005.

VINCENT, Heather K.; INNES, Kim E.; VINCENT, Kevin R. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 9, n. 6, p. 813-839, 2007.

VINCENT, HEATHER K.; MORGAN, JASON W.; VINCENT, KEVIN R. Obesity exacerbates oxidative stress levels after acute exercise. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 36, n. 5, p. 772-779, 2004.

VINCENT, Heather K.; TAYLOR, Ann G. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. **International journal of obesity**, v. 30, n. 3, p. 400-418, 2006.

VISSER, Marjolein. Higher levels of inflammation in obese children. **Nutrition**, v. 17, n. 6, p. 480-481, 2001.

WALLSTRÖM, Peter et al. Serum concentrations of β -carotene and α -tocopherol are associated with diet, smoking, and general and central adiposity. **The American journal of clinical nutrition**, v. 73, n. 4, p. 777-785, 2001.

WASSMANN, Sven; WASSMANN, Kerstin; NICKENIG, Georg. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. **Hypertension**, v. 44, n. 4, p. 381-386, 2004.

WEI, YAU- HUEI et al. Oxidative Damage and Mutation to Mitochondrial DNA and Age- dependent Decline of Mitochondrial Respiratory Functiona. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 854, n. 1, p. 155-170, 1998.

WEISBERG, Stuart P. et al. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1796-1808, 2003.

WEISS, Ram; KAUFMAN, Francine Ratner. Metabolic Complications of Childhood Obesity Identifying and mitigating the risk. **Diabetes Care**, v. 31, n. Supplement 2, p. S310-S316, 2008.

WELLEN, Kathryn E. et al. Inflammation, stress, and diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 115, n. 5, p. 1111-1119, 2005.

WELLEN, Kathryn E. et al. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1785-1788, 2003.

WHEATCROFT, S. B. et al. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. **Diabetic Medicine**, v. 20, n. 4, p. 255-268, 2003.

WOLFF, S. P. Diabetes mellitus and free radicals Free radicals, transition metals and oxidative stress in the aetiology of diabetes mellitus and complications. **British medical bulletin**, v. 49, n. 3, p. 642-652, 1993.

WOOD, Philip A. **How fat works**. Harvard University Press, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (Ed.). **Preventing chronic diseases: a vital investment**. World Health Organization, 2005.

XU, Haiyan et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 112, n. 12, p. 1821-1830, 2003.

YE, Jianping. Adipose tissue vascularization: its role in chronic inflammation. **Current diabetes reports**, v. 11, n. 3, p. 203-210, 2011.

YESILBURSA, D. et al. Lipid peroxides in obese patients and effects of weight loss with orlistat on lipid peroxides levels. **International Journal of Obesity**, v. 29, n. 1, p. 142-145, 2005.

YU, Byung Pal. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological reviews**, v. 74, n. 1, p. 139, 1994.

YUDKIN, John S. et al. Inflammation, obesity, stress and coronary heart disease: is interleukin-6 the link?. **Atherosclerosis**, v. 148, n. 2, p. 209-214, 2000.

ZEYDA, M. et al. Human adipose tissue macrophages are of an anti-inflammatory phenotype but capable of excessive pro-inflammatory mediator production. **International journal of obesity**, v. 31, n. 9, p. 1420-1428, 2007.

ZHANG, Kezhong; KAUFMAN, Randal J. From endoplasmic-reticulum stress to the inflammatory response. **Nature**, v. 454, n. 7203, p. 455-462, 2008.

ZHANG, Min et al. NADPH oxidase-4 mediates protection against chronic load-induced stress in mouse hearts by enhancing angiogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 42, p. 18121-18126, 2010.

Capítulo 2

Artigo: Interdisciplinary therapy changes superoxide dismutase activity and adiponectin in obese adolescents: a randomized controlled trial.

Submissão: Journal of Sports Sciences

Interdisciplinary therapy changes superoxide dismutase activity and adiponectin in obese adolescents: a randomized controlled trial

Running Title: Interdisciplinary therapy in obese adolescents: a randomized controlled trial

Keywords: treatment outcome, oxidative stress, inflammation, obesity, adolescent, adiponectin and superoxide dismutase.

Trial registration: Clinical Trials Registry: NCT01358773

Acknowledgments: Thanks to Maria Carolina Siqueira and Erickson Messias for their valuable support during biochemical analysis. There were no conflicts of interest associated with this work.

Word count: 2.698

ABSTRACT

The objective of this study is to evaluate the effect of interdisciplinary therapy in the parameters of the oxidative stress and the anti-inflammatory responses of obese adolescents. Were selected 57 participants, who were randomly divided into two groups: interdisciplinary therapy group and a control group. After 6 months of intervention, 17 participants of the interdisciplinary therapy group and 8 of the control group returned for the reevaluations. The interdisciplinary therapy group participated in a treatment with four weekly sessions of exercise, a weekly group therapy session, and a weekly nutritional education. Blood parameters of oxidative stress and anti-inflammatory response were evaluated. The results demonstrated that were significant increases in interdisciplinary therapy group for superoxide dismutase activity (6.56 ± 3.22 to 11.40 ± 7.49) and ferric reducing antioxidant potential concentration (532.91 ± 106.48 to 573.25 ± 112.57), and a non-reduction in adiponectin (40.9 ± 29.34 to 49.05 ± 41.22). A significant decrease in nitrite levels was also found (14.23 ± 8.48 to 11.45 ± 6.05). In control group significant reduction was found in adiponectin (31.56 ± 18.88 to 18.01 ± 11.66). This study suggests that the interdisciplinary therapy for 6 months was effective in improving the anti-inflammatory responses and the antioxidant defenses in obese adolescents.

INTRODUCTION

Although great scientific advancements have improved the health and quality of life of the population in general, in relation to obesity, these advances are less pronounceable because the number of obese children and adolescents throughout the world has been increasing. (Wang & Lobstein, 2006) This development of obesity, in initial ages, is associated with morbidity and mortality in adulthood. (Reinehr & Wabitsch, 2011)

The obesity in the first two decades of life already promotes metabolic disturbances such as oxidative stress and the low-grade systemic inflammation. (H. Vincent, Innes, & K. Vincent, 2007; Galcheva, Iotova, Yotov, Bernasconi, & Street, 2011) Chronically, these disorders will be exacerbated in obese subjects, leading to numerous comorbid conditions, such as insulin resistance, type 2 diabetes, dyslipidemia, hypertension, atherosclerosis, and nonalcoholic fatty liver disease. (Codoñer-Franch, Valls-Bellés, Arilla-Codoñer, & Alonso-Iglesias, 2011) In this manner, it is essential that they be offered treatment possibilities, already in the early stages, thus preventing the development of these comorbidities.

Considering the possible treatments, a systematic review conducted by Oude et al. (2009) demonstrated that combined behavioral lifestyle interventions compared with standard care or self-help can produce a significant and clinically meaningful reduction in overweight in children and adolescents. Thus, interdisciplinary therapies, which offer the possibility of an integrated treatment, including doctors, psychologists, nutritionists, physiotherapists, and physical educators, may be more effective.

However, few studies on the effect of interdisciplinary therapy on markers of oxidative stress and inflammation in obese adolescents are available. Tjona et al. (2009) compared the effect of 3 months of multidisciplinary treatment with interval training in obese adolescents. No differences were found in the levels of oxidized low-density lipoprotein,

already the plasma adiponectin increased only in the group undergoing the interval training. In addition, we have not found studies that assessed the effects of interdisciplinary therapy in obese adolescents, with variables of oxidative stress such as superoxide dismutase, ferric reducing antioxidant potential, and catalase. Thus, the objective of this study is to evaluate the effect of interdisciplinary therapy in the parameters of the oxidative stress and the anti-inflammatory responses of obese adolescents.

METHODS

Ethics Statement

This study was approved by the ethics committee and research in human beings of the Federal University of Uberlândia-Brazil (doc#498/10), and all the participants and their parents have signed a consent form.

Participants

One hundred seventy-five participants were initially recruited for participation in this study, which were medically screened; their pubertal stage was assessed, and their anthropometric measures were recorded. The endocrinologist completed a clinical interview including questions to determine eligibility based on inclusion (being postpubescent, according to the classification of Tanner & Whitehouse (1976), and obese, body mass index >95th percentile of the curve proposed by the Center for Diseases Control) and exclusion criteria (identification of genetic, metabolic, or endocrine diseases and previous use of drugs). At the end of this screening, 57 individuals, composed of 34 girls and 23 boys were randomly divided into two groups, interdisciplinary therapy group with 47 participants and a control group with 10 participants.

The individuals randomly selected for the interdisciplinary therapy group participated in an interdisciplinary therapy, with 6 months of duration. Four weekly sessions of exercise, a

weekly session of food reeducation, and a weekly session of group therapy, as well as medical consultations when necessary, were conducted. Lectures, every three months, for the awareness of closest relatives of adolescents, on obesity, its causes and forms of treatment, also were conducted. The individuals allocated to the control group maintained their daily activities normally during the 6 months of intervention. At the end of the intervention, the same treatment was offered to control group.

After 6 months of intervention, 17 individuals completed the treatment (16.18 ± 1.51 years; 8 boys and 9 girls). Twenty-five participants dropped out of treatment for personal reasons, work or school commitments and five individuals were excluded for not having the minimum frequency required for inclusion in the statistical analyzes (85%). The control group, 8 participants (15.4 ± 1.20 years; 4 boys and 4 girls) returned for the reevaluations.

Assessments preintervention and postintervention

Weight was measured using an electronic balance and height using a stadiometer. Body mass index was calculated as kilograms per square meter. The abdominal circumference was assessed using the perimeter of the abdomen at the height of the navel with an anthropometric tape (Sanny, SN-4010, Brazil).

Graded maximal exercise testing (2 min by stage, initial speed of $3\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$, increase of $1\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$ by stage, and treadmill inclination fixed at 1%) was performed on a motor-driven treadmill (Movement, RT 250pro, Brazil). An ergospirometer (Cosmed, FitMatePro, Italy) was used for the analysis of the consumption of oxygen per breathing. The maximum oxygen consumption was defined as the highest 30-s average during exercise. The velocity associated with the maximum oxygen consumption was obtained with equation using the final test speed. (Kuipers, Verstappen, Keizer, Geurten, & Van Kranenburg, 1985)

For the biochemical evaluation, blood samples were obtained by venipuncture after an overnight fast. The blood was collected in Vacutainer tubes containing anticoagulant

(EDTA). After collection, the blood was immediately centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes at 4°C for the separation of plasma and blood cells, from which, the hemolysate was prepared.

The plasma adiponectin concentration was measured using commercially available enzyme-linked immunosorbent assay kits from R&D Systems (Minneapolis, MN) according to the manufacturer's manual. The serum C reactive protein concentration was measured using a polystyrene particle enhanced high-sensitivity turbidimetric immunoassay from Aptec Diagnostics (Sint-Niklaas, Belgium).

The determination of nitrite plasma was made from the reaction of the Griess method. (Giustarini, Rossi, Milzani, & Dalle- Donne, 2008) The total antioxidant activity was determined using the ferric reducing antioxidant potential by means of the reduction of iron in its ferric state (Fe^{3+}) to its ferrous state (Fe^{2+}) in low pH, forming the complex ferric-tripyridyltriazine of intense blue coloration. (Benzie & Strain, 1996) Thiobarbituric acid-reactive substance level was determined in blood plasma. The method involves creation of colored complex between lipid peroxidation products and thiobarbituric acid at the temperature of 95°C and in an acidic environment. (Feldman, 2004)

The activity of antioxidant enzymes was measured in hemolysate. Aebi method was used to assay catalase activity. (Aebi, 1984) Superoxide dismutase activity was performed using the Misra and Fridovich method. (Misra & Fridovich, 1972) The dosage of total protein content of the samples was performed according to the Bradford method. (Bradford, 1976)

All absorbance values were measured using a spectrophotometer (Molecular Devices, Menlo Park, CA, USA).

Exercise Intervention

The aerobic exercise training was performed on a treadmill (Movement, RT250, Brazil), with two weekly sessions including three types of workouts that were subsequently performed in the same order until the end of the intervention. The workouts were: low intensity (60% of velocity associated with the maximum oxygen consumption /30-50min of duration), interval training of moderate intensity (85% of velocity associated with the maximum oxygen consumption /4min of sprint with 3min of active interval/4 times), and high intensity interval training (90-100% of velocity associated with the maximum oxygen consumption /1min of sprint with 1min of interval/10 times). The resistance training was carried out in two weekly sessions using the nonlinear periodization for the planning of the volumes and intensities to be performed. The exercises performed were lat pulldown, deadlift, bench press, leg press, and seated row (Axxcess, Fitness Equipment, Brazil). The intensity was determined by the number of maximum repetitions in three zones of repetition: a. 2-6 maximum repetitions; b. 8-12 maximum repetitions and c. 14-18 maximum repetitions. For zone a were carried out 2 series with 2 minute interval, for zone b were carried out 3 series with 1 minute interval and zone c were carried out 3 series with 30 seconds interval. The load was increased by 10% when the volunteer performed all series of the exercise with the maximum number of repetitions of established zone.

Nutritional Intervention

Once a week adolescents had nutritional lessons regarding topics, such as food pyramid, food record, weight loss diets, diet and light concepts, fat and cholesterol, and eating disorders. Energy intake was set at the levels recommended by the dietary reference for subjects with low levels of physical activity of the same age and gender. (National Academic Press [NCR], 2001) A 3-day dietary record was made for each adolescent with the help of his/her parents. The evaluation of the quantities of macronutrients was performed with software (Dietpro). Portions were measured in terms of familiar volumes

and sizes. The nutritionist explained to the parents and the adolescents how to record food consumption.

Psychological Intervention

The adolescents received psychological orientation for 1 h in a weekly group session. A psychologist discussed body image and eating disorders as well as binge eating disorders and their signs, symptoms, and health consequences. The psychologist also discussed the relation between emotions and food as well as familial problems in a group setting. Individualized psychological therapy was recommended if behavioral alterations including depression and anxiety symptoms or poor dietary habits, such as bulimia, anorexia nervosa, and binge eating, became apparent. (Lofrano-Prado et al., 2009)

Statistical Analysis

Initially, the Shapiro Wilk's test of normality was applied. For the comparisons between interdisciplinary therapy group and the control group preintervention and postintervention, the t-test for independent groups was used when the variables showed a normal distribution, and the Mann-Whitney U test was utilized when the variables exhibited abnormal distribution. For the comparisons within the same group, the t-test for dependent samples was used when the variables showed a normal distribution, and the Wilcoxon's matched pairs test was utilized when the variables exhibited abnormal distribution. For the association between the percentage change of variables postintervention, Pearson's correlation was used. The level of significance was $p < 0.05$. The software used for data analysis was the Statistic version 7.0.

RESULTS

No significant differences were found, preintervention, between the individuals of the interdisciplinary therapy group and the control group (Table 1).

****Table 1 near here****

After the intervention significant differences were found between the groups. (Table 1).

The intragroup comparison is shown in table 1. (Table 1)

Significant correlations were found between the percentage change in adiponectin levels and the percentage change in superoxide dismutase and ferric reducing antioxidant potential. No significant correlations were found between the percentage change in adiponectin levels and the percentage change in the thiobarbituric acid-reactive substance and catalase (Table 2).

****Table 2 near here****

DISCUSSION

Several studies in children and adolescents have demonstrated that obesity is associated with low-grade systemic inflammation and oxidative stress. (Zhu et al., 2006; Tam, Clement, Baur, & Tordjman, 2010) However, the effects of interdisciplinary therapy on these variables have not been studied. This study demonstrated that the interdisciplinary therapy for 6 months promoted; a non-reduction in plasmatic adiponectin, and a significant increase in total antioxidant activity and superoxide dismutase activity, in addition to a significant decrease in the levels of nitrite. Therefore, the interdisciplinary therapy is a treatment that can be seen in clinical practice as effective in reducing inflammation and oxidative stress in obese adolescents.

These results were accompanied by significant reductions in body weight, body mass index, and abdominal circumference, classic risk factors for the development of comorbidities. Besides significant increases in maximum oxygen consumption and velocity

associated with the maximum oxygen consumption, this highlights the improvements in the health of interdisciplinary therapy group adolescents after the intervention period.

A significant difference, in adiponectin levels, between the groups after 6 months of treatment was observed. According to Bottner et al. (2004), the serum adiponectin levels decrease by approximately 50% during pubertal development in lean boys. Likewise, adiponectin has been found even lower in obese adolescents than in their lean counterparts of corresponding age and pubertal stage. Thus, the non-reduction in adiponectin levels could be regarded as an intervention effect. In addition, the control group showed a significant reduction in adiponectin levels (35%), making the comparison between the two groups in the postintervention also show significant differences, with higher values for the interdisciplinary therapy group. The reduction of the levels of adiponectin in control group may be the result of increased abdominal circumference because a strong association between the accumulation of visceral fat and the reduction in the production of adiponectin has been demonstrated. (Ackermann et al., 2011)

Moreover, according to Lang, Chou, Sheu, & Lin (2011), a 3% reduction in body mass could have effects on plasma concentration of adiponectin. We found a reduction of 4.6% in body weight after interdisciplinary therapy, whereas the control group showed an increase of 2.5% in body mass. This reduction in body weight occurred due to adoption of exercises and the reduction of caloric intake, as shown in table 1. Although the mechanisms of the relation between the weight loss and the increase in adiponectin levels in human beings are not clarified, chronic administration of adiponectin in mice prevents a high-fat diet-induced weight gain partially because of increased fatty acid oxidation in isolated muscle. (Fruebis et al., 2010) Furthermore, adiponectin treatment increases energy dissipation in lipotrophic mice, increases the expression of enzymes involved in β -

oxidation, and reduces hyperglycemia and hyperinsulinemia of obese mice, suggesting that it reverses insulin resistance. (Yamauchi et al., 2001)

A recent study showed increases in adiponectin levels in obese adolescents, after 12 weeks of high-intensity interval training. (Racil et al., 2013) Similarly, the participants of this study underwent sessions of high-intensity interval training during the treatment, which indicates a possible effect of this type of training in the plasma levels of adiponectin. In addition, there is evidence that aerobic plus resistance training improves inflammation in obese adolescents in interdisciplinary interventions. (Campos et al., 2014) Thereby, the interdisciplinary therapy improves the anti-inflammatory profile because beyond what has already been described, the anti-inflammatory response of adiponectin seems to mediate the concentrations of other proinflammatory cytokines, more specifically the interleukin 6, tumor necrosis factor alpha, and the C reactive protein, in addition to inhibiting vascular inflammation and reducing the likelihood of developing cardiovascular diseases. (Scherer, Williams, Fogliano, Baldini, & Lodish, 1995)

There is evidence that obesity is associated with reduced expression of several antioxidant proteins. (Tinahones et al., 2009; Anderson et al., 2009; Curtis et al., 2010) Thus, it might be predicted that increasing antioxidants will reduce reactive oxygen species or oxidative damage and prevent metabolic defects associated with obesity.

The superoxide dismutase represents the primary cellular defense against superoxide radicals, whereas the ferric reducing antioxidant potential is a simple and reliable method of the index of antioxidant defense. (Firuzi, Lacanna, Petrucci, Marrosu, & Saso, 2005)

One of the main findings in the present investigation was a significant increases in superoxide dismutase activity and the concentration of blood ferric reducing antioxidant potential postintervention in interdisciplinary therapy group, whereas there were no changes in control group, showing the positive effect on antioxidant defense system of

interdisciplinary therapy. In addition, the increase in the activity of superoxide dismutase may indicate a protection against oxidative damage mediated by obesity, reducing the risk of development of insulin resistance. (Liu, Qi, Richardson, Ikeno, & Salmon, 2013)

An acute bout of exercise is known to increase the activities of antioxidant enzymes, including superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in skeletal muscle, heart, and liver. (Sen, 1995) Through blood analysis, an increase in superoxide dismutase activity in interdisciplinary therapy group, which can indicate the influence of physical training on improvement of antioxidants defenses, was identified. Despite this, increases in catalase activity in the interdisciplinary therapy group and the control group have not been found. These discrepancies in results may be due to the different techniques used between the studies and the analyzed material (tissue x blood), which makes the comparison of the data difficult. The ferric reducing antioxidant potential has been inversely associated with body mass index, as shown in a group of middle-eastern men. (Sharifian, Farahani, Pasalar, Gharavi, & Aminian, 2005) This evidence is in agreement with our results because increases in ferric reducing antioxidant potential and significant reductions in body mass index and body mass were observed; however, the mechanisms involved in this association are not clear.

The origin of reactive oxygen species in obese subjects is not clear. Liu et al. (2013), in a recent study, found that the increased expression of reactive oxygen species in obese patients do not come from the mitochondria of the muscle tissue and suggest that the chronic inflammation associated with the accumulation of fat could be an important factor. The increasing adipose tissue, particularly visceral adipose, alters intra-adipose T-cell subsets and stimulates macrophage infiltration and activation within adipose and other tissues that can stimulate production of proinflammatory cytokines and generate a pro-oxidative environment in the adipocyte. (Brownlee, 2011) In this study, we found

significant correlations between the percentage change in adiponectin levels and the percentage change in superoxide dismutase and between the percentage change in adiponectin levels and the percentage change in ferric reducing antioxidant potential. This fact contributes to stimulate the achievement of other research to uncover the association between inflammation and oxidative stress. Although we cannot say that there is a relation of cause and effect, it seems to be plausible that the reactive oxygen species of obese subjects are a consequence of inflammation in adipose tissue.

In addition to the increase of antioxidant defenses, the interdisciplinary therapy performed in this study promoted a decrease in the production of reactive nitrogen species. In normal conditions, the nitric oxide radical is metabolized rapidly into the stable end-products nitrite and nitrate in most body fluids. (Tsikas, Gutzki, & Stichtenoth, 2006) When superoxide and nitric oxide are produced simultaneously in proximity, a reaction is produced that leads to the formation of peroxynitrite and, subsequently, to hydroxyl radicals. The production of peroxynitrite can be instrumental in the development of many pathological processes in vivo. Modestly increasing superoxide and nitric oxide, each at a 10-fold greater rate, will increase peroxynitrite formation by 100-fold. Under proinflammatory conditions, simultaneous production of superoxide and nitric oxide can be strongly activated to increase production 1,000-fold, which will increase the formation of peroxynitrite by a 1,000,000-fold. (Pacher, Beckman, & Liaudet, 2007)

Thus, the lowest concentration of nitrite postintervention in interdisciplinary therapy group may reveal a decreased production of reactive nitrogen species because it represents a lower availability of nitric oxide for reaction with superoxide, thus reducing the formation of peroxynitrite. Adding to this, we can assume a lower production of superoxide radical in consequence of the increased expression of superoxide dismutase in interdisciplinary therapy group. In contrast, the control group showed an increase in the levels of nitrite,

indicating that these participants are exposed to probable damage promoted by reactive nitrogen species.

No significant reductions were found in the concentration of thiobarbituric acid-reactive substance after intervention. The spectrophotometric assay lacks specificity because other aldehydes besides malondialdehyde react with thiobarbituric acid, which can hinder the interpretation of data. (Codoñer-Franch et al., 2011)

CONCLUSIONS

In summary, this study suggests that the interdisciplinary therapy for 6 months was effective in improving the anti-inflammatory responses and the antioxidant defenses and in promoting gains in general health status of obese adolescents.

COMPETING INTERESTS

The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

Ackermann, D., & Jones, J., & Barona, J., & Callea, M. C., & Kima, J. E., & LaPiaa, B., & Voleka, J. S., ... Fernandez, M. L. (2011). Waist circumference is positively correlated with markers of inflammation and negatively with adiponectin in women with metabolic syndrome. *Nutrition Research*, *31.3*, 197-204. doi: 10.1016/j.nutres.2011.02.004.

Aebi, H. E. (1984) Catalase: methods in enzymatic analysis. Basel: Verlag Chemie.

Anderson, E. J., & Lustig, M. E., & Boyle, K. E., & Woodlief, T. L., & Kane, D. A., & Lin, C. T., & Price, J. W. ... Neuffer, P. D. (2009) Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *Journal of Clinical Investigation*, *119.3*, 573–581. doi: 10.1172/JCI37048.

Benzie, I. F., & Strain, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. (1996). *Analytical Biochemistry*, 239.1, 70-76.

Bottner, A., & Kratzsch, J., & Muller, G., & Kapellen, T. M., & Blüher, S., & Keller, E. ...Kiess W. (2004) Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89, 4053–4061.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 7.72, 248-54.

Brownlee, M. (2011) Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414.6865, 813–820.

Campos, R. M., & de Mello, M. T., & Tock, L., & Silva, P. L., & Masquio, D. C., & de Piano, A., ... & Dâmaso, A. R. (2014). Aerobic Plus resistance training improves bone metabolism and inflammation in adolescents who are obese. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 28(3), 758-766.

Codoñer-Franch, P., & Valls-Bellés, V., & Arilla-Codoñer, A., & Alonso-Iglesias, E. (2011) Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress. *Translational Research*, 158.6, 369-384. doi: 10.1016/j.trsl.2011.08.004.

Curtis, J. M., & Grimsrud, P. A., & Wright, W.S., & Xu, X., & Foncea, R.E., & Graham, D.W. ... Bernlohr DA. (2010) Downregulation of adipose glutathione S-transferase A4

leads to increased protein carbonylation, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction. *Diabetes*, 59.5, 1132-42. doi: 10.2337/db09-1105.

Feldman, E. (2004) Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay. Animal models of diabetic complications consortium (AMDCC protocols). Version, 1, 1-3.

Firuzi, O., & Lacanna, A., & Petrucci, R., & Marrosu, G., & Saso L. (2005) Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by “ferric reducing antioxidant power” assay and cyclic voltammetry. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1721.1, 174–184.

Fruebis, J., & Tsao, T. S., & Javorschi, S., & Ebbets-Reed, D., & Erickson, M. R.S., & Yen, F.T. ... Lodish, H.F. (2001) Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 2005–2010.

Galcheva, S.V., & Iotova, V. M., & Yotov, Y. T., & Bernasconi, S., & Street, M. E. (2011) Circulating proinflammatory peptides related to abdominal adiposity and cardiometabolic risk factors in healthy prepubertal children. *European Journal of Endocrinology*, 164.4, 553-558. doi: 10.1530/EJE-10-1124

Giustarini, D., & Rossi, R., & Milzani, A., & Dalle- Donne, I. (2008) Nitrite and nitrate measurement by Griess reagent in human plasma: evaluation of interferences and standardization. *Methods in Enzymology*, 440, 361-80. doi: 10.1016/S0076-6879(07)00823-3.

Kuipers, H., & Verstappen, F. T., & Keizer, H. A., & Geurten, P., & Van Kranenburg, G. (1985) Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiological correlates. *International Journal of Sports Medicine*, 6, 197-201.

Lang, H. F., & Chou, C.Y., & Sheu, W. H. H., & Lin, J. Y. (2011) Weight loss increased serum adiponectin but decreased lipid levels in obese subjects whose body mass index was lower than 30 kg/m². *Nutrition Research*, 31.5, 378-386. doi: 10.1016/j.nutres.2011.04.004.

Liu, Y., & Qi, W., & Richardson, A., & Ikeno, Y., & Salmon, A. B. (2013) Oxidative damage associated with obesity is prevented by overexpression of CuZn-or Mn-superoxide dismutase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 438.1, 78-83. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.07.029

Lofrano-Prado, M. C., & Antunes, H. K., & Prado, W. L., & Piano, A., & Caranti, D. A., & Tock, L. ... Dâmaso, A. R. (2009) Quality of life in Brazilian obese adolescents: effects of a long-term multidisciplinary lifestyle therapy. *Health and Quality of Life Outcomes*, 7, 61. doi: 10.1186/1477-7525-7-61.

Misra, H. P., & Fridovich, I. (1972) The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 247.10, 3170-3175.

NRC (National Academic Press). (2001) Dietary Reference Intake: applications in dietary assessment. Washington, DC, National Academic Press.

Oude, L. H., & Baur, L., & Jansen, H., & Shrewsbury, V. A., & O'Malley, C., & Stolk, R. P., & Summerbell, C. D. (2009) Interventions for treating obesity in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1, 1. doi: 10.1002/14651858.CD001872.pub2.

Pacher, P., & Beckman, J. S., & Liaudet, L. (2007) Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiological Reviews*, 87, 315–424.

Racil, G., & Ounis, O. B., & Hammouda, O., & Kallel, A., & Zouhal, H., & Chamari, K., & Amri, M. (2013) Effects of high vs. moderate exercise intensity during interval training on lipids and adiponectin levels in obese young females. *European Journal Applied Physiology*, 113.10, 2531-2540. doi: 10.1007/s00421-013-2689-5.

Reinehr, T., & Wabitsch, M. (2011) Childhood obesity. *Current Opinion in Lipidology*, 22.1, 21-25. doi: 10.1097/MOL.0b013e32833f9c37

Scherer, P. E., & Williams, S., & Fogliano, M., & Baldini, G., & Lodish, H. F. (1995) A novel serum protein similar to Cq1, produced exclusively in adipocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 270, 26746-9.

Sen, C. K. (1995). Oxidants and antioxidants in exercise. *Journal of Applied Physiology*, 79(3), 675-686.

Sharifian, A., & Farahani, S., & Pasalar, P., & Gharavi, M., & Aminian, O. (2005) Shift work as an oxidative stressor. *Journal of Circadian Rhythms*, 28,15.

Tam, C. S., & Clement, K., & Baur, L. A., & Tordjman, J. (2010) Obesity and low grade inflammation: a paediatric perspective. *Obesity Reviews*, *11*, 118–26. doi: 10.1111/j.1467-789X.2009.00674.x

Tanner, J. M., & Whitehouse, R. H. (1976) Clinical longitudinal standards for height, weight velocity and stages of puberty. *Archives of Disease in Childhood*, *51*, 170–179

Tinahones, F. J., & Murri-Pierri, M., & Garrido-Sánchez, L., & García- Almeida, J. M., & García- Serrano, S., & García- Arnés, J., & García- Fuentes, E. (2009) Oxidative stress in severely obese persons is greater in those with insulin resistance. *Obesity (Silver Spring)*, *17.2*, 240-6. doi: 10.1038/oby.2008.536.

Tjonna, A. E., & Stolen, T. O., & Bye, A., & Volden, M., & Slordahl, S., & Odegard, R. ... Wisloff, U. (2009) Aerobic interval training reduces cardiovascular risk factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. *Clinical Science*, *116*, 317–326. doi: 10.1042/CS20080249.

Tsikas, D., & Gutzki, F. M., & Stichtenoth, D. O. (2006) Circulating and excretory nitrite and nitrate as indicators of nitric oxide synthesis in humans: methods of analysis. *European Journal of Clinical Pharmacology*, *62*, 51–9. doi: 10.1007/s00228-005-0020-z

Vincent, H. K., & Innes, K. E., & Vincent, K. R. (2007) Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, *9*, 813–839. doi: 10.1111/j.1463-1326.2007.00692.x

Wang, Y., & Lobstein, T. I. M. (2006) Worldwide trends in childhood overweight and obesity. *International Journal of Pediatric Obesity*, 1.1, 11-25.

Yamauchi, T., & Kamon, J., & Waki, H., & Terauchi, Y., & Kubota, N., Hara, K., ... Kadowaki, T. (2001) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nature Medicine*, 7, 941–946

Zhu, Y. G., & Zhang, S. M., & Wang, J. Y., & Xiao, W., & Wang, X., & Zhou, J. (2006) Overweight and obesity induced oxidative stress in children. *Biomedical and Environmental Sciences*, 19, 353–359.

Table 1: Intragroup and intergroup comparisons.

	Interdisciplinary therapy group (n = 17)			Control group (n = 8)			Risk Ratio
	preintervention	postintervention	% change (CI)	preintervention	postintervention	% change (CI)	
Body mass (kg)	98.56 ± 16.03	93.87 ± 15.02**	-4.64 ± 4.88 (-7.15/-2.13)	97.60 ± 15.16	99.83 ± 13.78	2.50 ± 2.99* (2.50/0.00)	6.12
Body mass index (kg/m ²)	34.99 ± 3.70	33.36 ± 3.75**	-4.64 ± 4.88 (-7.15/-2.13)	34.85 ± 4.32	35.68 ± 4.07	2.50 ± 2.99* (2.50/0.00)	6.12
AC (cm)	112.32 ± 10.35	106.53 ± 9.92**	-5.10 ± 3.47 (-6.89/-3.32)	111.38 ± 9.87	115.35 ± 8.61#***	1.20 ± 4.58* (-2.63/5.03)	1.88
VO _{2max} (ml/kg/min)	24.64 ± 3.90	28.80 ± 4.77**	17.48 ± 13,13 (10.73/24.23)	23.60 ± 4.32	25.50 ± 3.21	9.93 ± 16.22 (-3.63/23.50)	1.33
vVO _{2max} (km/h)	7.72 ± 0.94	9.03 ± 1.16**	17.47 ± 13,13 (10.71/24.22)	6.94 ± 0.98	7.55 ± 0.95*	10.00 ± 16.42 (-3.73/23.73)	1.33
C-reactive protein (mg/dL)	1.08 ± 1.01	0.84 ± 0.61	-7,56 ± 30,28 (-23.13/8.01)	1.20 ± 0.77	1.03 ± 0.50	-1.14 ± 48.78 (-41.92/39.64)	0.70
Adiponectin (ng/ml)	40.9 ± 29.34	49.05 ± 41.22	231.10 ± 643,2 (-36.60/570.31)	31.56 ± 18.88	18.01 ± 11.66#***	-22.88 ± 42.47 (-73.12/1.37)	8.00
Nitrite (µM)	14.23 ± 8.48	11.45 ± 6.05**	-26.15 ± 25.53 (-46.68/-15.47)	12.84 ± 10.03	17.52 ± 10.86	60.93 ± 101.8* (-24.18/146.05)	14.00
FRAP (mMEq/L)	532.91 ± 106.48	573.25 ± 112.57**	8.52 ± 8.32 (4.25/12.80)	532.33 ± 73.90	556.84 ± 97.70	-2.27 ± 18.63 (-17.86/13.30)	1.53
TBARS (nM/mg)	2.38 ± 1.99	4.07 ± 2.50	54.79 ± 51.29 (-45.44/145.18)	2.62 ± 1.35	1.24 ± 0.89	62.56 ± 68.80 (-220.40/290.30)	0.94
Catalase (deltaE/min/mg)	5.20 ± 4.50	3.81 ± 3.31	89.75 ± 389.02 (-110.26/289.77)	3.03 ± 2.31	4.53 ± 4,05	506.97 ± 114.72 (-424.96/-68.94)	0.94
Superoxide dismutase (U/ug)	6.56 ± 3.22	11.40 ± 7.49**	100.56 ± 161.06 (17.75/183.37)	6.65 ± 1.80	7.72 ± 2.26	28.61 ± 59.50 (-21.13/78.36)	1.22

Protein consumption (g)	132.56 ± 44.86	87.94 ± 30.59**	-23.88 ± 43.60 (-46.30/-1.46)	126.51 ± 61.84	105.87 ± 49.87	-11.64 ± 35.85 (-68.69/45.40)	1.01
Lipids consumption (g)	76.46 ± 24.83	48.27 ± 12.16**	-29.76 ± 30.29 (-45.34/-14.18)	100.06 ± 93.47	93.47 ± 20.63#	-45.37 ± 3.32 (-50.67/-40.08)	0.94
CHO consumption (g)	298.50 ± 62.85	209.54 ± 55.85**	-29.19 ± 15.60 (-37.21/-21.17)	268.01 ± 51.91	229.65 ± 80.31	-14.91 ± 26.08 (-56.42/26.59)	1.25
Calorie consumption (kcal)	2412.41 ± 451.91	1494.84 ± 449.16**	-31.77 ± 11.69 (-37.78/-25.76)	2478.65 ± 415.58	2387.14 ± 505.52*	-27.06 ± 8.88 (-41.19/-12.94)	1.33

AC = abdominal circumference. VO₂max = maximum oxygen consumption. vVO₂max = velocity associated with the VO₂max. FRAP = ferric reducing antioxidant potential. TBARS = thiobarbituric acid reactive substances. CHO = carbohydrate. Values are means ± standard deviation; CI = confidence intervals (-95%/+95%). #p ≤ 0.05 versus ITG postintervention. **p ≤ 0.05 versus preintervention in the same group. *p ≤ 0.05 versus ITG % change.

Table 2: Correlation between the percentage change of adiponectin and percentage change of the parameters of oxidative stress after intervention.

	r	p value
Adipnectin and SOD	0.53	<0.01
Adipnectin and FRAP	0.39	<0.05
Adipnectin and TBARS	0.04	0.84
Adipnectin and catalase	-0.11	0.62

FRAP = ferric reducing antioxidant potential. SOD = superoxide dismutase. TBARS = thiobarbituric acid reactive substances. For this analysis we used the subject interdisciplinary therapy group (n = 17) and the subject of control group (n = 8), totaling 25 subjects.

Capítulo 3

Artigo: Velocity associated with maximum oxygen consumption: correlation with C-reactive protein and usefulness for prescription of aerobic training in obese adolescents.

Submissão: Journal of Adolescent Health

Title: Velocity associated with maximum oxygen consumption: correlation with C-reactive protein and usefulness for prescription of aerobic training in obese adolescents

Authors: MSc. João Elias Dias Nunes¹²³; MSc. Heitor Santos Cunha¹²³; Dr. Renata Roland Teixeira¹³; MSc. Sandra Regina Xavier Santos¹⁴; Dr. Foued Salmen Espindola¹³; Dr. Nadia Carla Cheik¹²

¹Federal University of Uberlândia; ²Laboratory of the Physiology of Performance;

³Laboratory of the Biochemistry and Molecular Biology; ⁴Faculty of Medicine.

Corresponding Author: João Elias Dias Nunes

Postal Address: Benjamin Constant Street, 1286, Aparecida, CEP: 38400-678

E-mails: joaoeliasnunes@gmail.com and joaoelias@faefi.ufu.br

Telephones: (34) 3218-2952 and (34) 9166-1508

Fax: (34) 3218-2910

Acknowledgments

I thank the Federal University of Uberlândia – UFU and the Foundation for Research Support of Minas Gerais - FAPEMIG (APQ-01093-12) for their financial support in this work. There were no conflicts of interest associated with this work.

ABSTRACT

- Purpose** The purposes of this study were: 1) investigate whether different markers of inflammation (CRP and TNF- α) are correlated to vVO_{2max} and VO_{2max} in adolescents with obesity; 2) examine the association of these variables when adjusted by parameters of body composition.
- Methods** Were selected 57 individuals, 34 girls and 23 boys. Anthropometric measurements (weight, height and abdominal circumference) and body composition (BMI, visceral fat, body fat) were assessment. Plasma TNF- α and CRP was measured. Graded maximal exercise testing was performed to obtain the maximum oxygen consumption (VO_{2max}) and velocity associated with the VO_{2max} (vVO_{2max}).
- Results** Significant correlations of CRP with VO_{2max} and vVO_{2max} were found ($r=-0.40$ and $r=-0,36$, respectively). No correlations were observed between TNF- α and VO_{2max} e vVO_{2max} . CRP was associated to the VO_{2max} and vVO_{2max} independently of measurements of body composition.
- Conclusions** The CRP was inversely associated with direct measurement of VO_{2max} and the indirect variable of cardiorespiratory fitness vVO_{2max} , in obese adolescents, even after adjustments in body composition, a potential confounding factor. No association was found between TNF- α and the parameters of cardiorespiratory fitness.

Keywords: C-reactive protein, cytokines, oxygen consumption, treadmill test and exercise therapy.

Implications and Contribution

The findings of this study demonstrate that it is possible to prescribe the appropriate intensity of exercise for obese adolescents, respecting the biological individuality and offering a practical and inexpensive test to assess this population.

Introduction

The increased prevalence of obesity in adolescence has become a public health problem (1), because obesity in childhood and adolescence is strongly correlated with adult obesity, which reduces the quality of life of individuals and increases the economic costs of health care (2).

Recent studies have demonstrated a systemic inflammation in obese children and adolescents, characterized by high level of pro-inflammatory cytokines and chemokines (3, 4). Another studies show a mediator role of systemic inflammation in the development of chronic diseases such as cardiovascular diseases and type 2 diabetes (5, 6, 7). Therefore, adolescents with obesity are more exposed to possible comorbid conditions.

A high cardiorespiratory fitness is associated with a reduced systemic inflammation (8). Previous studies have shown an inverse association between the C-reactive protein (CRP) and cardiorespiratory fitness (9, 10, 11). However, research on the association between markers of inflammation and cardiorespiratory fitness were not performed with the obese adolescent, which would be important due to potential future prevention of comorbidities in this population.

In addition, the association between inflammatory markers and a practical parameter of prescription of training, which can be used in the field, as the velocity associated with maximum oxygen consumption (vVO_{2max}), has not yet been

studied. The vVO_{2max} is defined as the speed which elicited the highest oxygen consumption, and was first examined by Cooper (1968) (12), as an alternative method for predicting VO_{2max} in the effort to simplify the procedures of the tests and reduce costs.

Thus, the purposes of this study were: 1) investigate whether different markers of inflammation (CRP and TNF- α) are correlated to vVO_{2max} and VO_{2max} in adolescents with obesity; 2) examine the association of these variables when adjusted by parameters of body composition.

Methods

One hundred and seventy-five participants were initially recruited for participation in this study which were medically screened, their pubertal stage was assessed, and their anthropometric measures were recorded (ie, height, weight and BMI). The endocrinologist completed a clinical interview including questions to determine eligibility based on inclusion criteria: being post-pubescent, according to the classification of Tanner and Whitehouse (1976) (13) and obese, BMI>95th percentile of the curve proposed by the Center for Diseases Control (CDC); and exclusion criteria: identification of genetic, metabolic or endocrine diseases, and previous use of drugs. At the end of this screening were selected 57 individuals, 34 girls and 23 boys (table 1). This study was approved by the Ethics Committee and Research in Human Beings of the Federal University of Uberlândia-Brazil (doc#498/10) and all the participants and their parents have signed a consent form.

Weight was measured by an electronic balance and height by a stadiometer. Body mass index (BMI) was calculated as kilograms per square meter. The abdominal circumference (AC) was assessed by perimeter of the abdomen at the height of

the navel with a anthropometric tape (Sanny, SN-4010, Brasil). Body composition was estimated by analyzer of tetrapolar bioelectrical impedance (Biodynamics, BIA310e, USA). Visceral fat (VF) was estimated by ultrasonography (Mindray, DC-6, China), defined as the distance between the internal surface of the abdominal rectus muscle and the anterior wall of the aorta (14). All abdominal ultrasonographic (US) procedures and the measurements of visceral fat tissue were performed by the same physician. The intraexamination coefficient of variation for US was 2.6%.

Blood samples were obtained by venipuncture after an overnight fast. Plasma TNF- α was measured by a quantitative two-site high-sensitivity enzyme immunoassay (DRG Diagnostics, Germany), CRP by a polystyrene particle enhanced high-sensitivity immunoturbidimetric assay (Aptec Diagnostics, Belgium) Graded maximal exercise testing (2min by stage, initial speed – 3km.h⁻¹, increase of 1km.h⁻¹ by stage and treadmill inclination fixed at 1%) was performed on a motor-driven treadmill (Movement, RT 250pro, Brasil). A ergospirometer (Cosmed, FitMatePro, Italy) was used for analysis of the consumption of oxygen breathing by breathing. The maximum oxygen consumption (VO_{2max}) was defined as the highest 30-s average during exercise. The velocity associated with the VO_{2max} (vVO_{2max}) was obtained by the following formula: $vVO_{2max} \text{ (km.h}^{-1}\text{)} = v + 1.0 \times (t/120)$. Where v is the last velocity completed for 120 seconds; t the number of seconds the final not completed velocity was sustained; 1.0 is the value of the increase in velocity in km.h⁻¹ from the last stage and 120 is the number of seconds in the stage (15).

Initially, we tested the normality of all variables (Shapiro Wilk's test). CRP, TNF- α , relative VO_{2max} and vVO_{2max} were logarithmically transformed [$\log(x+1)$] to reduce

skewness. Descriptive statistics are given as mean (SD) (as well as range). The correlation between the parameters of cardiorespiratory fitness (VO_{2max} , vVO_{2max}) and the markers of systemic inflammation (CPR and $TNF-\alpha$) was performed by Pearson's correlation coefficient. To assess whether inflammatory markers were independently associated with cardiorespiratory fitness after adjustment for potential confounders (body composition), was performed multivariable regression analyses. Predictive variables were included in models with a significance level of $p \leq 0,10$. Statistical significance was inferred at $p \leq 0,05$. Statistical analyses were performed with Statistica version 7.0.

Results

The participants characteristics are shown in table 1.

Significant correlations of CRP with VO_{2max} and vVO_{2max} are shown in figure 1A and B.

The relationship between the CRP and the VO_{2max} was reduced when adjusted for three variables of body composition, $r = -0,40$ for $\beta = -0,28$ (BMI), $\beta = -0,34$ (AC) and $\beta = -0,35$ (VF), as well as, two parameters have reduced the association between CRP and vVO_{2max} , $r = -0,36$ for $\beta = -0,29$ (AC) and $\beta = -0,31$ (VF), however these associations remained significant. No relationship was found between the CRP and the parameters of cardiorespiratory fitness when adjusted by BF (table 2).

Significant correlations were found of the vVO_{2max} with BMI, AC and BF. Similarly these same variables were also correlated to VO_{2max} (table 3).

No correlations were observed between $TNF-\alpha$ and VO_{2max} e vVO_{2max} (figure 1C and D), the association of these factors adjusted for body composition did not change the results (table 2).

Discussion

The main finding of the present study was that, CRP was inversely related to VO_{2max} and vVO_{2max} (figure 1A and B), even after adjustment for potential confounders such as BMI, AC and VF (table 2), in adolescents with obesity. Although other studies have demonstrated the inverse correlation between inflammatory markers and cardiorespiratory fitness (9, 10, 11), this is the first study to demonstrate: 1) this association in obese adolescents and 2) a significant correlation between the CRP and vVO_{2max} .

It has been recommended for subjects with chronic diseases, including obese, exercise of moderate and vigorous intensities (16, 17, 18). In this sense, the vVO_{2max} can be used as a reference for prescription of training, as shown in some studies (19, 20). It is a parameter which can be obtained in practice: it is viable and not requiring equipment of high cost and specialized personnel. Adding to this, the findings of this study, it becomes clear the usefulness of vVO_{2max} as a tool in the exercise evaluation for obese adolescents.

As vVO_{2max} and the VO_{2max} show similar correlations with inflammatory markers (figure 1) and indicators of body composition (table 3), we can infer that it can be reliably used for prescription of training in obese adolescents. The parameter most scientifically studied, VO_{2max} , is not commonly available at training centers, gyms, parks and schools, and thus rarely used in the training prescription. In addition, the exercise based on vVO_{2max} , reduces the empiricism and generalization, because suits the intensity to biological individuality of obese adolescents.

The levels of CRP were associated to the VO_{2max} and vVO_{2max} independently of measurements of body composition (table 2). One study with 172 subjects aged 26-84 years also found a significant correlation ($r = -0.40$) between CRP and

VO_{2max} , which is in accordance with the data found in this study (11). This finding is also consistent with the results of previous studies (21, 10), however more studies are needed to clarify the reasons for this association.

The motives for the correlation between cardiorespiratory fitness and levels of CRP are not well elucidated. However, hepatic CRP production is stimulated by interleukin-6 (IL-6) and, to a lesser extent, by interleukin-1 (IL-1) and TNF- α (22). Individuals who are obese and/or hyperinsulinemic have increased adipocyte production of inflammatory markers, including IL-6 and TNF- α (23, 24, 25). Several studies suggested a close relationship between cardiorespiratory fitness and inflammatory status (26, 27). Although we have not examined the concentrations of IL-6 and IL-1, our study demonstrated a production of TNF- α in obese adolescents (table 1), similarly to other studies (28). Whereas, the inverse correlation between the accumulation of body fat and cardiorespiratory fitness is well established, therefore, the relationship between, CRP, VO_{2max} and vVO_{2max} should be mediated by the adipose tissue.

Association between the VO_{2max} , vVO_{2max} and the TNF- α was not found (figure 1C and D). The reason for increased circulating TNF- α levels observed in obese people is not thought to be associated with over-production in the adipose tissue. It is hypothesized that systemic effects of leptin or other adipokines may induce TNF- α secretion from macrophages and lymphocytes (29). However, TNF- α is involved in the pathophysiology of obesity-associated insulin resistance and atherosclerosis (30, 31), therefore, the study of its association with the variables related to obesity still deserves attention.

Limitations of the present study include the relatively small sample size and cross-sectional design. Future studies are needed to identify which inflammatory pathway is associated with cardiorespiratory fitness and determine the pathophysiological mechanisms involved in this association.

In conclusion, the CRP was inversely associated with direct measurement of VO_{2max} and the indirect variable of cardiorespiratory fitness vVO_{2max} , in obese adolescents, even after adjustments in body composition. No association was found between TNF- α and the parameters of cardiorespiratory fitness.

References

1. Ebbeling CB, Pawlak DB, Ludwig DS. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *Lancet* 2002; 360:473–482.
2. Singh GK, Kogan MD, Van Dyck PC, et al. Racial/ethnic, socioeconomic, and behavioral determinants of childhood and adolescent obesity in the United States: analyzing independent and joint associations. *Ann Epidemiol* 2008;18(9):682–695.
3. Romeo J, Martinez-Gomez D, Diaz LE, et al. Changes in cardiometabolic risk factors, appetite-controlling hormones and cytokines after a treatment program in overweight adolescents: preliminary findings from the EVASYON study. *Pediatric Diabetes* 2011;12:372–380.
4. Whitney LB, Craig AJ, Kelley Strohacker KC, et al. Obese Mexican American Children Have Elevated MCP-1, TNF- α , Monocyte Concentration, and Dyslipidemia. *Pediatrics* 2012;129(5): e1180-1186.
5. Rana JS, Nieuwdorp M, Jukema JW, et al. Cardiovascular metabolic syndrome—an interplay of, obesity, inflammation, diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Obes Metab* 2007;9(3):218–232.

6. Shoelson SE, Herrero L, Naaz A. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology* 2007;132(6):2169–2180.
7. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol* 2009;6(6):399–409.
8. Thompson PD. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1319–1321.
9. Rahimi K, Secknus MA, Adam M, et al. Correlation of exercise capacity with high-sensitive C reactive protein in patients with stable coronary artery disease. *Am Heart J* 2005;150:1282–1289.
10. Williams MJ, Milne BJ, Hancox RJ, et al. C-reactive protein and cardiorespiratory fitness in young adults. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005;12: 216–220.
11. Kullo IJ, Khaleghi M, Hensrud DD. Markers of inflammation are inversely associated with VO₂ max in asymptomatic men. *J Appl Physiol* 2007;102: 1374–1379.
12. Cooper KH. A mean of assessing maximal oxygen intake. *JAMA* 1968; 203: 201-4.
13. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight velocity and stages of puberty. *Arch Dis Child* 1976;51:170–179.
14. Ribeiro-Filho FF, Faria NA, Kohlmann O, et al. Ultrasonography for the evaluation of visceral fat and cardiovascular risk. *Hypertension* 2001;38:713-717.
15. Kuipers H, Verstappen FT, Keizer HA, et al. Variability of aerobic performance in the laboratory and its physiological correlates. *Int J Sports Med* 1985; 6: 197-201.

16. Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, et al. Appropriate Physical Activity Intervention Strategies for Weight Loss and Prevention of Weight Regain for Adults. American College of Sports Medicine position stand. *Med Sc Sports Exerc* 2009;41(2):459-471.
17. Sharman JE, Stowaser M. Australian association for exercise and sports science position statement on exercise and hypertension. *J Sci Med Sport* 2009;12(2):252-257.
18. World Health Organization: Global Recommendations on Physical Activity for Health: *WHO* 2010.
19. Rozenek RK, Funato JK, Hoshikawa M, et al. Physiological responses to interval training sessions at velocities associated with VO₂max. *J Strength Cond Res* 2007;21(1):188-192.
20. Jonathan PL, Adeel S, Geoffrey PW et al. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol* 2010;588(6):1011–1022.
21. Church TS, Barlow CE, Earnest CP, et al. Associations between cardiorespiratory fitness and C-reactive protein in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1869–1876.
22. Christos K, Paul DT. The Effects of Physical Activity on Serum C-Reactive Protein and Inflammatory Markers. *JACC* 2005;45(10):1563–1569.
23. McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, et al. Differentiation between obesity and insulin resistance in the association with C-reactive protein. *Circulation* 2002;106:2908 –2912.

24. Lavie CJ, Church TS, Milani RV, et al. Impact of physical activity, cardiorespiratory fitness, and exercise training on markers of inflammation. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 2011;31(3):137-145.
25. Lira FS, Rosa JC, Santos RV, et al. Visceral fat decreased by long-term interdisciplinary lifestyle therapy correlated positively with interleukin-6 and tumor necrosis factor- α and negatively with adiponectin levels in obese adolescents. *Metabolism Clinical and Experimental* 2011;60:359–365.
26. Mattusch F, Dufaux B, Heine O, et al. Reduction of the plasma concentration of C-reactive protein following nine months of endurance training. *Int J Sports Med* 2000; 21:21-24.
27. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* 2005 98: 1154–1162.
28. Gtowinska B, Urban M. Selected cytokines (Il-6, Il- 8, Il-10, MCP-1, TNF-alpha) in children and adolescents with atherosclerosis risk factors: obesity, hypertension, diabetes. *Wiad Lek* 2003; 56: 109-116.
29. Koistinen HA, Bastard JP, Dusserre E, Ebeling P, Zegari N, Andreelli F, et al. Subcutaneous adipose tissue expression of tumour necrosis factor-alpha is not associated with whole body insulin resistance in obese nondiabetic or in type-2 diabetic subjects. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 302-310.
30. Yudkin JS. Inflammation, obesity, and the metabolic syndrome. *Horm Metab Res* 2007; 39(10):707–709.
31. Nieto-Vazquez I, Fernández-Veledo S, Krämer DK, et al. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha. *Arch Physiol Biochem* 2008;114(3):183–194.

Table 1. Participants Characteristics

	Mean (SD)	Range
Age, years	16.4 (1.56)	13.0 – 20.0
Body Composition		
Body mass index, kg/m ²	36.0 (4.3)	29.1 – 49.2
Abdominal circumference, cm	114.6 (10.5)	93.0 – 142.0
Body fat, %	33.5 (5.5)	20.0 – 44.4
Visceral fat, cm	3.7 (1.1)	1.5 – 6.5
Cardiorespiratory Fitness		
VO _{2max} , ml.kg ⁻¹ .min ⁻¹	26.0 (4.6)	18.0 – 38.5
VO _{2max} , L.min ⁻¹	2.6 (0.6)	1.8 – 4.2
Velocity associated with VO _{2max} , km.h ⁻¹	8.3 (1.3)	6.2 – 11.8
Markers of Inflammation		
CRP, mg/dL	1.1 (0.8)	0.5 – 4.4
TNF- α , pg/mL	5.0 (4.2)	0.0 – 18.0

Table 2: Multiple regression models with parameters of body composition and cardiorespiratory fitness as predictors of CRP.

Predictors Variables (variable A/variable B)	β (variable A/variable B)	p model
BMI/ vVO _{2max}	0,31 [*] /-0,22 [*]	0,002
BMI/ VO _{2max}	0,29 [*] /-0,28 [*]	0,000
AC/ vVO _{2max}	0,26 [*] /-0,29 [*]	0,003
AC/ VO _{2max}	0,24 [*] /-0,34 [*]	0,001
BF/ vVO _{2max}	0,25 [*] /-0,22 [*]	0,006
BF/ VO _{2max}	0,23 [*] /-0,27 [*]	0,001
VF/ vVO _{2max}	0,30 [*] /-0,31 [*]	0,001
VF/ VO _{2max}	0,28 [*] /-0,35 [*]	0,002

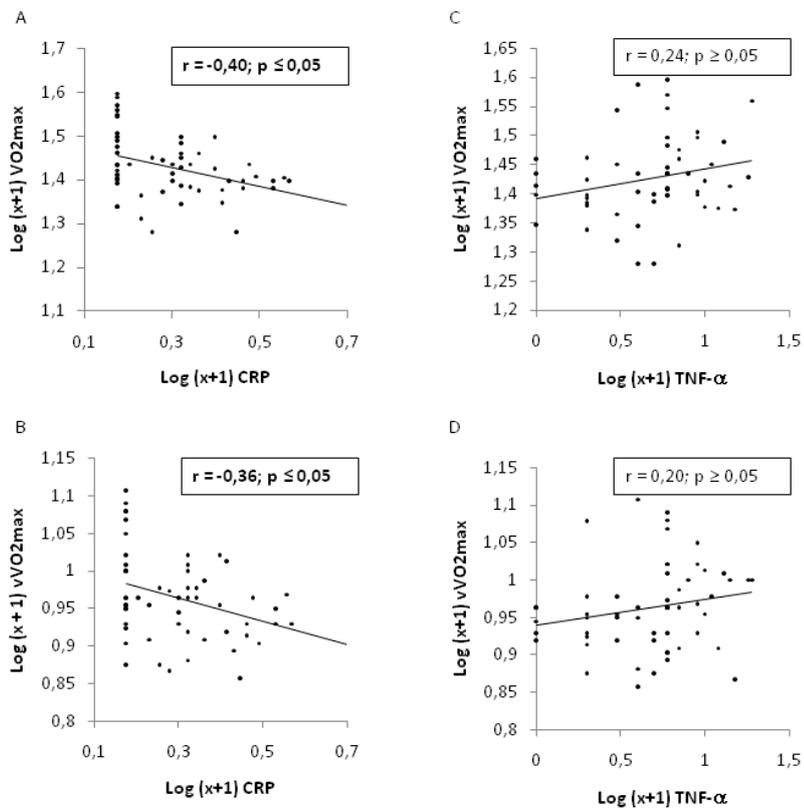
Regression coefficient β and p model values of multiple linear regression analysis. AC, abdominal circumference; BF, body fat; BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; TNF- α , tumor necrose factor alpha; VF, visceral fat; VO_{2max}, maximum oxygen consumption; vVO_{2max}, velocity associated with VO_{2max}. ^{*}: p \leq 0,10 for inclusion in the model.

Table 3: Association between cardiorespiratory fitness and parameters of body composition

	VO _{2max}		vVO _{2max}	
	r	p	r	p
BMI	-0,41	0,00	-0,45	0,00
AC	-0,26	0,04	-,026	0,04
BF	-0,46	0,00	-0,54	0,00
VF	-0,21	0,11	-0,16	0,22
VO _{2max}			0,82	0,00

Correlation coefficient r and p values. AC, abdominal circumference; BF, body fat; BMI, body mass index; CRP, C-reactive protein; TNF- α , tumor necrose factor alpha; VF, visceral fat; VO_{2max}, maximum oxygen consumption; vVO_{2max}, velocity associated with VO_{2max}.

Figure 1: Correlations between markers of inflammation and cardiorespiratory fitness



Scatter plots depicting correlation between log (x+1) C-reactive protein (CRP), and log (x+1) tumor necrose factor alpha (TNF- α) with log (x+1) maximal O₂ consumption (VO₂max) and log (x+1) velocity associated with VO₂max (vVO₂max). Bold: significant association.