



Revista Paulista de Pediatria

ISSN: 0103-0582

ISSN: 1984-0462

Sociedade de Pediatria de São Paulo

Costa, Karla Cristina Malta; Ciampo, Luiz Antonio Del; Silva, Patrícia Silveira; Lima, Jailson Costa; Martins, Wellington de Paula; Nogueira-de-Almeida, Carlos Alberto
MARCADORES ULTRASSONOGRÁFICOS DE RISCO CARDIOVASCULAR EM CRIANÇAS OBESAS
Revista Paulista de Pediatria, vol. 36, núm. 2, 2018, Abril-Junho, p. 00
Sociedade de Pediatria de São Paulo

DOI: 10.1590/1984-0462;/2018;36;2;00016

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=406055520018>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais informações do artigo
- Site da revista em redalyc.org

redalyc.org
UAEM

Sistema de Informação Científica Redalyc

Rede de Revistas Científicas da América Latina e do Caribe, Espanha e Portugal

Sem fins lucrativos acadêmica projeto, desenvolvido no âmbito da iniciativa
acesso aberto

MARCADORES ULTRASSONOGRÁFICOS DE RISCO CARDIOVASCULAR EM CRIANÇAS OBESAS

Ultrasonographic markers of cardiovascular disease risk in obese children

Karla Cristina Malta Costa^a, Luiz Antonio Del Ciampo^{a,*}, Patrícia Silveira Silva^a, Jailson Costa Lima^a, Wellington de Paula Martins^a, Carlos Alberto Nogueira-de-Almeida^a

RESUMO

Objetivo: Avaliar se a obesidade altera os marcadores ultrassonográficos de risco metabólico e cardiovascular em crianças.

Métodos: Estudo transversal com 80 crianças entre 6 e 10 anos, comparando 40 crianças obesas com 40 crianças normais. Foram avaliados os seguintes parâmetros: peso; altura; índice de massa corporal; pressão arterial; massa gorda; taxa metabólica basal; HDL-colesterol, LDL-colesterol e colesterol total; insulina de jejum e glicose; índice quantitativo de verificação da sensibilidade à insulina (QUICKI); Homeostase Modell Assessment (HOMA-IR); Diâmetro basal da artéria braquial; Dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (FMD) e variação do índice de pulsatilidade (PI-C).

Resultados: Entre obesos e não obesos, observaram-se diferenças significativas na pressão arterial sistólica ($97,7 \pm 8,4$ vs. $89,0 \pm 5,8$ mmHg; $p < 0,01$), pressão arterial diastólica ($64,3 \pm 7,9$ vs. $52,9 \pm 5,1$ mmHg; $p < 0,01$), gordura corporal ($45,1 \pm 5,9$ vs. $21,3 \pm 6,0\%$; $p < 0,01$), taxa metabólica basal ($1216,1 \pm 102,1$ vs. $1072,9 \pm 66,4$ Kcal; $p < 0,01$), colesterol ($164,7 \pm 25,2$ vs. $153,4 \pm 15,8$ mg/dL; $p = 0,03$), insulina de jejum ($7,1 \pm 5,2$ vs. $2,8 \pm 1,8$ piU/mL; $p < 0,01$), HOMA-IR ($1,5 \pm 1,1$ vs. $0,6 \pm 0,4$; $p < 0,01$), diâmetro basal da artéria braquial ($2,5 \pm 0,3$ vs. $2,1 \pm 0,3$ mm; $p < 0,01$); PI-C ($-15,5 \pm 27,2$ vs. $-31,9 \pm 15,5\%$; $p < 0,01$), redução de QUICKI ($0,4 \pm 0,05$ vs. $0,4 \pm 0,03$; $p < 0,01$) e FMD ($6,6 \pm 3,2$ vs. $15,6 \pm 7,3\%$; $p < 0,01$).

Conclusões: A obesidade piora os marcadores ultrassonográficos e laboratoriais de risco metabólico e cardiovascular em crianças.

Palavras-chave: Criança; Obesidade; Doenças cardiovasculares; Endotélio; Ultrassonografia.

ABSTRACT

Objective: To evaluate whether the obesity alters ultrasonographical markers of metabolic and cardiovascular disease risk in children.

Methods: A cross-sectional study evaluated 80 children aged between 6 and 10 years, comparing 40 obese with 40 normal children. The following parameters were assessed: weight; height; body mass index; arterial blood pressure; body fat; basal metabolic rate; HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and total cholesterol; fasting insulin and glucose; quantitative insulin sensitivity check index (QUICKI); homeostasis model of assessment - insulin resistance (HOMA-IR); basal diameter of the brachial artery; brachial artery flow mediated dilation (FMD) and of pulsatility index change (PI-C).

Results: Significant differences were observed between obese vs. non-obese children: systolic blood pressure (97.7 ± 8.4 vs. 89.0 ± 5.8 mmHg; $p < 0.01$), diastolic blood pressure (64.3 ± 7.9 vs. 52.9 ± 5.1 mmHg; $p < 0.01$), proportion of body fat (45.1 ± 5.9 vs. $21.3 \pm 6.0\%$; $p < 0.01$), basal metabolic rate (1216.1 ± 102.1 vs. 1072.9 ± 66.4 Kcal; $p < 0.01$), total cholesterol (164.7 ± 25.2 vs. 153.4 ± 15.8 mg/dL; $p = 0.03$), fasting insulin (7.1 ± 5.2 vs. 2.8 ± 1.8 piU/mL; $p < 0.01$), HOMA-IR (1.5 ± 1.1 vs. 0.6 ± 0.4 ; $p < 0.01$), basal diameter of the brachial artery (2.5 ± 0.3 vs. 2.1 ± 0.3 mm; $p < 0.01$); PI-C (-15.5 ± 27.2 vs. $-31.9 \pm 15.5\%$; $p < 0.01$), decreased QUICKI (0.4 ± 0.05 vs. 0.4 ± 0.03 ; $p < 0.01$), and FMD (6.6 ± 3.2 vs. $15.6 \pm 7.3\%$; $p < 0.01$).

Conclusions: Obesity worsens ultrasonographical and laboratorial markers of metabolic and cardiovascular disease risk in children.

Keywords: Child; Obesity; Cardiovascular disease; Endothelium; Ultrasonography.

*Autor correspondente. E-mail: delciamp@fmrp.usp.br (L.A.D. Ciampo).

^aFaculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Recebido em 21 de março de 2017; aprovado em 28 de julho de 2017; disponível on-line em 22 de março de 2018.

INTRODUÇÃO

A obesidade na infância é um fator de risco importante para doenças cardiovasculares (DCV), dislipidemia, intolerância à glicose, hipertensão, obesidade na vida adulta e mortalidade prematura.^{1,2} Nas últimas décadas, a prevalência de obesidade aumentou significativamente: aproximadamente 10% das crianças em idade escolar no mundo estão com sobrepeso; em países ocidentais, 35% estão com sobrepeso, e aproximadamente um quarto dessas crianças são obesas.^{3,4} O excesso de peso em crianças representa um problema de saúde pública, e está associado a danos endoteliais e anormalidades metabólicas.^{1,5,6}

O endotélio danificado tem um papel importante no desenvolvimento de muitas doenças cardiovasculares,⁷ como aterosclerose e doença arterial coronariana.⁷ Além disso, pode ser um fator preditivo para essas condições.⁸ A disfunção endotelial é o principal causador do desenvolvimento da aterosclerose, e pode ser observada muito antes do aparecimento da doença aterosclerótica estrutural.⁹

Para o clínico, mesmo levando em conta que ele não fará a avaliação endotelial de todos os seus pacientes, é importante saber das comorbidades ligadas à obesidade, porque é uma oportunidade de reforçar os riscos associados a esta condição. A avaliação não-invasiva da função endotelial mostra o potencial para a estratificação do risco cardiovascular em crianças¹⁰ e, dentre esses métodos, a dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (FMD) e a variação do índice de pulsatilidade (PI-C) da artéria braquial se destacam por serem seguras, replicáveis e relativamente simples;⁹ e podem ser aplicadas em crianças.^{10,11} Porém, não há estudos anteriores que avaliem a variação do índice de pulsatilidade da artéria braquial como sendo um marcador da disfunção endotelial, comparando crianças obesas e não-obesas. Assim, neste estudo, nosso objetivo foi comparar marcadores ultrassonográficos, clínicos e metabólicos do risco cardiovascular entre crianças obesas e eutróficas.

MÉTODO

Este é um estudo transversal descritivo com pacientes atendidos na clínica pediátrica do sistema público de saúde em Ribeirão Preto, Brasil. Crianças com idades entre 6 e 10 anos foram convidadas a participar quando obesas [Índice de Massa Corporal (IMC) > percentil 95] ou eutróficas [IMC > percentil 5, e IMC < percentil 85]. A classificação de crianças como obesas ou eutróficas se baseou nas curvas de normalidade do National Centers for Health Statistics (NCHS), considerando o IMC por gênero e idade.¹² Essa referência foi escolhida por ser a curva usada na instituição onde os dados foram coletados. Não houve critérios de comparação. O único critério escondido foi a impossibilidade de realizar toda a avaliação proposta.

O tamanho da amostra foi estimado com base em outros estudos utilizando a dilatação mediada pelo fluxo. Em um estudo de desenho paralelo, 23 sujeitos deveriam detectar uma diferença de FMD de 60% (teste bicaudal) (por exemplo, 5 vs. 8%, com 90% de potência). Para atingir uma diferença de FMD de 40% (por exemplo, 5 vs. 7%, com 90% de potência), 46 participantes deveriam estar inclusos.¹³ Considerando que uma diferença absoluta de 4 a 8% pode ser causada por uma variação pessoal, e que uma diferença mínima de 2% ao comparar dois grupos deve ser considerada como a mínima clinicamente importante,¹³⁻¹⁵ 40 crianças foram avaliadas em cada grupo.

Os tutores das crianças foram informados e assinaram um termo de consentimento antes de as crianças serem inscritas no estudo. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética local.

Parâmetros antropométricos (peso, altura, IMC), pressão arterial sistólica e diastólica, porcentagem de gordura corporal, taxa de metabolismo basal, marcadores laboratoriais (insulina de jejum, glicose de jejum, índice QUICKI, HOMA-IR, colesterol total, HDL-colesterol, e LDL-colesterol) foram analisados. Alguns parâmetros sonográficos também foram avaliados (dilatação mediada pelo fluxo (FMD), variação do índice de pulsatilidade (PI-C) e diâmetro basal da artéria braquial). Os exames foram realizados de manhã (7h – 9h), 15 minutos após descanso em decúbito dorsal, em um quarto com controle de temperatura (20-23°C). Todos os indivíduos estavam em jejum a pelo menos 12 horas e tinham descansado na noite anterior, por pelo menos 8 horas. No início, a pressão arterial foi medida no braço esquerdo, com um esfigmomanômetro padrão de mercúrio, estabelecendo a pressão arterial sistólica (PAS) e a pressão arterial diastólica (PAD). Peso e altura foram usados para determinar o IMC. A porcentagem de gordura corporal e a taxa de metabolismo basal foram avaliadas pelo analisador de impedância bioelétrica (AIB), equipamento BF-906 (Maltron®, Reino Unido). A avaliação sonográfica usou uma sonda linear 6-12 MHz, presente no dispositivo HD7 (Philips Medical Systems®, Bothell, WA) ligado ao eletrocardiograma. Todas as avaliações antropométricas, de pressão arterial e sonográficas foram realizadas por um único observador.

A técnica para obter o FMD e o PI-C da artéria braquial foi realizada da seguinte maneira: após o período de descanso, uma imagem de ultrassom da artéria braquial direita foi obtida no plano longitudinal, 5-10 cm no sentido proximal da fosse antecubital, visualizando a interface íntima e o lumen dos vasos em ambas as paredes vasculares. Um filme de 5 segundos foi gravado para avaliação posterior, ao fim do exame ecográfico. O modo Doppler espectral foi ajustado e padronizado com a frequência de 5 MHz, filtro de 50 Hz e volume da amostra de 1,0 mm. A amostra foi posicionada no meio da artéria braquial em um ângulo máximo de 60°. Usando o software, as seguintes variáveis de três ondas consecutivas foram determinadas: pico de velocidade sistólica (PVS),

velocidade diastólica final (EDV), velocidade média (VM), e índice de pulsatilidade (IP) [IP = (PVS-DV)/VM].¹⁶

Uma compressão pneumática (padronizada em 200 mmHg) foi realizada por 5 minutos no antebraço direito, abaixo do epicôndilo medial das crianças. Após este período, houve uma rápida deflação do esfigmomanômetro. Um minuto após a deflação, outro filme ecográfico de 5 segundos foi gravado e armazenado. Depois, o Doppler foi realizado 70-80 segundos após soltar o medidor de pressão para obter os parâmetros do Doppler e determinar novos valores de PI, que foram gravados no aparelho.

Depois do exame, os valores de base do diâmetro arterial braquial (BDpre) e 1 minuto após estímulo (BDpos) foram determinados.¹⁷ Para essas medidas, a melhor imagem do vaso durante a diástólica final (onda R no eletrocardiograma) foi escolhida de maneira subjetiva para realizar 3 medidas, da íntima proximal à íntima distal.

Amostras de sangue (20 mL) foram coletadas e armazenadas em tubos cônicos (Becton Dickinson, Plymouth, Reino Unido). O soro foi armazenado a -80°C para a simultânea determinação das seguintes variáveis: glicose de jejum, determinada pelo método da oxidase usando um analisador Konelab 60i (WienerLab®, Rosario, Argentina); colesterol total e HDL-colesterol, determinados pelo método enzimático, com o analisador BT 3000BTplus (WienerLab, Rosario, Argentina), LDL-colesterol foi calculado de acordo com a fórmula: LDL-colesterol = (colesterol total) – (HDL) + (triglicerídes/5), insulina em jejum, medida pela quimioluminescência com o DPCImmulite 2000 (DiagnosticProductsCorporation®, LosAngeles, CA). A resistência à insulina foi avaliada checando o QUICKI; QUICKI = 1/[log [glicose em jejum (mg/dL)] + log [insulina de jejum (pIU/mL)]] e o modelo de avaliação da homeostase da resistência à insulina (HOMA-IR), HOME-IR = glucose de jejum (mg/dL) x insulina de jejum (pU / mL)/405.¹⁸

Os dados foram analisados com o software SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, EUA). Estatísticas descritivas foram realizadas para estabelecer média, desvio padrão, valores mínimos e máximos dos parâmetros estudados. A comparação de parâmetros quantitativos entre grupos foi demonstrada pelo teste t não pareado ou Mann-Whitney. O nível de significância estatística foi estabelecido em p<0.05.

RESULTADOS

Um total de 92 crianças foram analisadas para elegibilidade. Dessas, 83 aceitaram participar do estudo; 41 crianças eram obesas e 42, eutróficas. Dessas, 3 crianças não completaram os exames laboratoriais (1 obesa e 2 eutróficas) e foram excluídas da avaliação final. Peso, IMC, pressão arterial sistólica e diastólica, porcentagem de gordura corporal e taxa de metabolismo basal foram significativamente diferentes entre os grupos. Não houve diferença significativa em relação à idade (Tabela 1).

Ao comparar os achados laboratoriais e sonográficos da disfunção endotelial (Tabela 2) em indivíduos obesos, observaram-se taxas mais altas de colesterol total ($164,7 \pm 25,2$ vs. $15,8 \pm 153,4$; p=0,03), insulina de jejum ($7,1 \pm 5,2$ vs. $2,8 \pm 1,8$ pIU/mL; p<0,01), HOMA-IR ($1,5 \pm 1,1$ vs. $0,60 \pm 0,34$; p<0,01), diâmetro basal da artéria braquial ($2,5 \pm 0,3$ vs. $2,1 \pm 0,3$ mm; p<0,01). Além disso, crianças obesas obtiveram valores mais baixas: QUICKI ($0,38 \pm 0,05$ vs. $0,43 \pm 0,03$, p<0,01), FMD ($6,6 \pm 3,2$ vs. $15,6 \pm 7,3\%$; p<0,01) e PI-C ($-15,5 \pm 27,2$ vs. $-31,9 \pm 15,5\%$; p<0,01). Não houve diferenças significativas na glicose de jejum, HDL-colesterol e LDL-colesterol.

Tabela 1 Parâmetros antropométricos, pressão arterial e composição corporal em crianças obesas e controles.

	Obesas (N=40)	Controlez (N=40)	p-valor*
Idade (anos)	$7,8 \pm 1,1$	$7,6 \pm 1,1$	0,82
Peso (Kg)	$45,9 \pm 10,45$	$25,4 \pm 4,4$	<0,01
IMC (Kg/m ²)	$24,5 \pm 3,4$	$15,4 \pm 1,4$	<0,01
Pressão sistólica (mmHg)	$97,7 \pm 8,4$	$89,0 \pm 5,8$	<0,01
Pressão diastólica (mmHg)	$64,3 \pm 7,9$	$52,9 \pm 5,2$	<0,01
Gordura corporal (%)	$45,1 \pm 5,9$	$21,3 \pm 6,0$	<0,01
Taxa de metabolismo basal (Kcal)	$1.216,1 \pm 102,1$	$1.072,9 \pm 66,4$	<0,01

Dados apresentados como média ± desvio padrão; *teste t não pareado ou teste U de Mann-Whitney foram usados dependendo da distribuição dos dados.

Tabela 2 Parâmetros ultrassonográficos e laboratoriais em crianças obesas e controles.

	Obesas (N=40)	Controles (N=40)	p-valor*
Insulina de jejum (pU/mL)	$7,1 \pm 5,2$	$2,8 \pm 1,8$	<0,01
Glicose de jejum (mg/dL)	$82,4 \pm 5,9$	$83,6 \pm 6,2$	0,38
QUICKI	$0,38 \pm 0,05$	$0,43 \pm 0,03$	<0,01
Colesterol total (mg/dL)	$164,7 \pm 25,2$	$153,4 \pm 15,8$	0,03
HDL-colesterol (mg/dL)	$59,8 \pm 5,9$	$60,1 \pm 4,6$	0,46
LDL-colesterol (mg/dL)	$83,1 \pm 22,2$	$77,9 \pm 13,7$	0,32
HOMA-IR	$1,5 \pm 1,1$	$0,6 \pm 0,4$	p<0,01
BD pre(mm)	$2,5 \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,3$	p<0,01
FMD (%)	$6,6 \pm 3,2$	$15,6 \pm 7,3$	p<0,01
PI-C (%)	$-15,5 \pm 27,2$	$-31,9 \pm 15,5$	p<0,01

Dados apresentados como: média ± desvio padrão; QUICKI: quantitative insulin sensitivity check index; HOMA-IR: modelo de avaliação de homeostase – resistência à insulina; BD pre: diâmetro basal da artéria braquial; FMD: Dilatação mediada pelo fluxo da artéria braquial (FMD) e variação do índice de pulsatilidade (PI-C). *teste t não pareado ou teste U de Mann-Whitney foram usados dependendo da distribuição dos dados.

DISCUSSÃO

O objetivo deste estudo foi melhorar a avaliação da disfunção endotelial em crianças obesas por meio de um método não-invasivo, em comparação a já conhecidos marcadores clínicos, laboratoriais e metabólicos dos riscos cardiovasculares.^{19,20} É uma oportunidade de introduzir o estudo do PI-C da artéria braquial, já que o método tem confiabilidade e facilidade técnica para a análise sonográfica da disfunção endotelial em comparação ao FMD.²¹

Em relação aos parâmetros metabólicos, foram observados valores significativamente maiores de pressão sistólica e diastólica, gordura corporal e taxa de metabolismo basal dentre as crianças obesas. Houve evidência de piora nos marcadores de resistência à insulina, com valores aumentados de insulina de jejum e HOMA-IR; e QUICKI reduzido no grupo dos obesos, em comparação ao grupo dos eutróficos. Em relação ao estudo da função endotelial, foram observados valores significativamente menores de FMD e PI-C no grupo dos obesos.

Alguns estudos anteriores mostraram uma correlação entre a obesidade em crianças e mudanças em marcadores laboratoriais, principalmente o colesterol total,²² LDL-colesterol, HDL-colesterol, triglicérides, glicose de jejum e insulina basal^{20,23-25} parcialmente coincidentes com alguns resultados encontrados neste estudo. Além disso, a correlação positiva entre HOMA-IR e a síndrome metabólica, IMC, circunferência da cintura e peso em crianças já foi descrita;²⁶ assim como os valores menores de QUICKI em adultos obesos.^{26,27} Esses marcadores mostraram diferenças significativas nos grupos de crianças analisados, o que traduz a resistência à insulina aumentada dentre os obesos.

Ao examinar os resultados deste estudo em relação à função endotelial, observou-se redução significativa de FMD-C e PI em crianças obesas. Os principais achados de marcadores não-invasivos dos riscos cardiovasculares estudados foram: FMD reduzido da artéria braquial e aumento da espessura da íntima-média (IMT) da artéria carótida, tanto em crianças²⁸⁻³² quanto em adultos.^{23,27,33} A avaliação da variação de PI-C da artéria braquial 1 minuto após a compressão do antebraço por 5 minutos foi analisada pela primeira vez como um marcador endotelial para as crianças deste estudo. Dentre os adultos, foram demonstradas altas correlações com idade,

IMC, circunferência da cintura, colesterol, pressão arterial sistólica e IMT.²⁷ Além disso, a técnica aparentemente é mais simples de ser aprendida e tem boa replicabilidade quando comparada ao FMD.²¹ A contribuição deste estudo para os clínicos não é sugerindo que ele avalie o endotélio de todos os seus pacientes, mas a possibilidade de fazer isso e de saber que as comorbidades ligadas à obesidade são comuns, com um efeito precoce no sistema cardiovascular.

A principal limitação deste estudo foi o viés da seleção. Estudos transversais que usam amostras por conveniência e não randomizadas possuem um viés de seleção que só pode ser eliminado com um estudo de coorte. Outra limitação importante se refere à inclusão de crianças em idade escolar considerando seu estágio de maturação sexual e gênero. Neste período, a variabilidade da maturação e as diferenças entre garotos e garotas podem influenciar os resultados, porque algumas crianças com menos de 10 anos, principalmente com obesidade, já haviam entrado na puberdade. Por outro lado, considerando o aspecto inovador da avaliação ultrassonográfica, os resultados apresentados, mesmo considerando a validade externa e interna insuficiente, podem ser úteis para abrir uma discussão sobre a importância de avaliar, por meio de imagens médicas, a evolução do processo aterosclerótico durante a infância. Estudos sobre os biomarcadores e marcadores não-invasivos da disfunção endotelial aumentaram nos últimos anos, em busca do melhor método de aplicabilidade clínica como ferramenta para pesquisa em crianças obesas e com excesso de peso.³⁴ Assim, tendo em vista as mudanças em estilo de vida e o aumento nas taxas de obesidade infantil, há uma necessidade contínua de avançar na prevenção e no diagnóstico precoce de alterações cardiovasculares e metabólicas impostas por esta patologia, para que se possa modificar a história natural da doença.³⁵

Finalmente, a obesidade piora os marcadores ultrassonográficos e laboratoriais do risco da doença metabólica e cardiovascular em crianças.

Financiamento

O estudo não recebeu financiamento.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

- Ruminska M, Witkowska-Sedek E, Majcher A, Brzewski M, Czerwonogrodzka-Senczyna A, Demkow U, et al. Carotid intima-media thickness and metabolic syndrome components in obese children and adolescents. *Adv Exp Med Biol.* Epub 2017 Apr 30.
- Levy E, Saenger AK, Steffes MW, Delvin E. Pediatric obesity and cardiometabolic disorders: risk factors and biomarkers. *EJIFCC.* 2017;28:6-24.
- Jones RE, Jewell J, Saksena R, Ramos Salas X, Breda J. Overweight and obesity in children under 5 years: surveillance opportunities and challenges for the WHO European Region. *Front Public Health.* 2017;5:58.
- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the United States, 2011-2012. *JAMA.* 2014;311:806-14.
- Ostrem JD, Evanoff N, Kelly AS, Dengel DR. Presence of a high-flow-mediated constriction phenomenon prior to flow-mediated dilation in normal weight, overweight, and obese children and adolescents. *J Clin Ultrasound.* 2015;43:495-501.

6. Williams MJA, Milne BJ, Ambler A, Theodore R, Ramrakha S, Caspi A, et al. Childhood body mass index and endothelial dysfunction evaluated by peripheral arterial tonometry in early midlife. *Int J Obes (Lond)*. 2017.
7. Vita JA, Treasure CB, Nabel EG, McLenahan JM, Fish RD, Yeung AC, et al. Coronary vasomotor response to acetylcholine relates to risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1990;81:491-7.
8. Yeboah J, Sutton-Tyrrell K, McBunie MA, Burke GL, Herrington DM, Crouse JR. Association between brachial artery reactivity and cardiovascular disease status in an elderly cohort: the cardiovascular health study. *Atherosclerosis*. 2008;197:768-76.
9. Patel S, Celermajer DS. Assessment of vascular disease using arterial flow mediated dilatation. *Pharmacol Rep*. 2006;58:3-7.
10. Järvisalo MJ, Raitakari OT. Ultrasound assessment of endothelial function in children. *Vasc Health Risk Manag*. 2005;1:227-33.
11. Hopkins ND, Stratton G, Tinken TM, McWhannell N, Ridgers ND, Graves LE, et al. Relationships between measures of fitness, physical activity, body composition and vascular function in children. *Atherosclerosis*. 2009;204:244-9.
12. Krebs NF, Himes JH, Jacobson D, Nicklas TA, Guilday P, Styne D. Assessment of child and adolescent overweight and obesity. *Pediatrics*. 2007;120(Suppl 4):S193-228.
13. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: A diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest*. 2005;127:2254-63.
14. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J*. 1995;74:247-53.
15. Welsch MA, Allen JD, Geaghan JP. Stability and reproducibility of brachial artery flow-mediated dilation. *Med Sci Sports Exerc*. 2002;34:960-5.
16. Gosling RG, Dunbar G, King DH, Newman DL, Side CD, Woodcock JP, et al. The quantitative analysis of occlusive peripheral arterial disease by a non-intrusive ultrasonic technique. *Angiology*. 1971;22:52-5.
17. Nicolau LG, Martins WP, Gallarreta FM, Lima JC, Filho FM. Influence of pregnancy and smoking on brachial artery flow-mediated dilation values and time until maximum response. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;284:313-7.
18. Martins MP, Santana LF, Nastri CO, Ferriani FA, Sa MF, Reis RM. Agreement among insulin sensitivity indexes on the diagnosis of insulin resistance in polycystic ovary syndrome and ovulatory women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2007;133:203-7.
19. Baker JL, Olsen LW, Sorensen TI. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. *N Engl J Med*. 2007;357:2329-37.
20. Lloyd LJ, Langley-Evans SC, McMullen S. Childhood obesity and risk of the adult metabolic syndrome: a systematic review. *Int J Obes (Lond)*. 2012;36:1-11.
21. Lima JC, Martins WP, Nastri CO, Nicolau LG, Filho FM. Pulsatility index change of brachial artery shows better reproducibility than flow-mediated vasodilation. *Ultrasound Med Biol*. 2010;36:2036-41.
22. Hudgins LC, Annava jhala V, Kovanlikaya A, Frank MD, Solomon A, Parker TS, et al. Non-invasive assessment of endothelial function in children with obesity and lipid disorders. *Cardiol Young*. 2016;26:532-8.
23. Raitakari OT, Juonala M, Viikari JS. Obesity in childhood and vascular changes in adulthood: Insights into the cardiovascular risk in young finns study. *Int J Obes (Lond)*. 2005;29(Suppl 2):S101-4.
24. Ryder JR, Dengel DR, Jacobs Jr. DR, Sinaiko AR, Kelly AS, Steinberger J. Relations among adiposity and insulin resistance with flow-mediated dilation, carotid intima-media thickness, and arterial stiffness in children. *J Pediatr*. 2016;168:205-11.
25. Woo KS, Chook P, Yu CW, Sung RY, Qiao M, Leung SS, et al. Overweight in children is associated with arterial endothelial dysfunction and intima-media thickening. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:852-7.
26. Akinci G, Akinci B, Coskun S, Bayindir P, Hekimsoy Z, Ozmen B. Evaluation of markers of inflammation, insulin resistance and endothelial dysfunction in children at risk for overweight. *Hormones (Athens)*. 2008;7:156-62.
27. Martins WP, Nastri CO, Ferriani RA, Filho FM. Brachial artery pulsatility index change 1 minute after 5-minute forearm compression: comparison with flow-mediated dilatation. *J Ultrasound Med*. 2008;27:693-9.
28. Aggoun Y, Tounian P, Dabbas-Tyan M, Massih TA, Girardet JP, Ricour C, et al. Arterial rigidity and endothelial dysfunction in obese children. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2002;95:631-5.
29. Karpoff L, Vinet A, Schuster I, Oudot C, Goret L, Dauzat M, et al. Abnormal vascular reactivity at rest and exercise in obese boys. *Eur J Clin Invest*. 2009;39:94-102.
30. Meyer AA, Kundt G, Steiner M, Schuff-Werner P, Kienast W. Impaired flow-mediated vasodilation, carotid artery intima-media thickening, and elevated endothelial plasma markers in obese children: the impact of cardiovascular risk factors. *Pediatrics*. 2006;117:1560-7.
31. Yilmazer MM, Tavli V, Carti OU, Mese T, Güven B, Aydin B, et al. Cardiovascular risk factors and noninvasive assessment of arterial structure and function in obese Turkish children. *Eur J Pediatr*. 2010;169:1241-8.
32. Zhu W, Huang X, He J, Li M, Neubauer H. Arterial intima-media thickening and endothelial dysfunction in obese Chinese children. *Eur J Pediatr*. 2005;164:337-44.
33. Zueff LF, Martins WP, Vieira CS, Ferriani RA. Ultrasonographic and laboratory markers of metabolic and cardiovascular disease risk in obese women with polycystic ovary syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012;39:341-7.
34. Canas JA, Sweeten S, Balagopal PB. Biomarkers for cardiovascular risk in children. *Curr Opin Cardiol*. 2013;28:103-14.
35. Dupuy M, Godeau E, Vignes C, Ahluwalia N. Socio-demographic and lifestyle factors associated with overweight in a representative sample of 11-15 year olds in France: results from the WHO-Collaborative Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2011;11:442.