

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA**

CRISTIANA CORTES DE OLIVEIRA

**Expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em
mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética**

**Ribeirão Preto
2015**

CRISTIANA CORTES DE OLIVEIRA

**Expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em
mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de concentração: Clínica Médica

Opção: Investigação Biomédica

Orientadora: Prof^a Dr^a Carla Barbosa Nonino

Ribeirão Preto

2015

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Cortes-Oliveira, Cristiana

Expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídicos em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética, 2015.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Clínica Médica.

Orientadora: Nonino, Carla Barbosa.

1. Obesidade
2. Intervenção dietética
3. Perda de peso
4. Expressão gênica

Cristiana Cortes de Oliveira

Expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética, 2015.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de concentração: Clínica Médica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico esse trabalho aos meus pais Júlia e Donizeti e meus queridos irmãos Natália e Fábio por todo apoio, compreensão, carinho, paciência e incentivo que sempre me proporcionaram na minha vida pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é o mínimo que posso fazer após a contribuição de tantas pessoas na elaboração dessa dissertação. Quando paro para pensar nesses dois anos e meio de mestrado, tenho a certeza que o último conselho que meu eterno guerreiro (meu pai Donizeti) me deu em vida tinha muito sentido. “Trabalhar no lugar certo e com as pessoas certas” foi o que mais me fez evoluir nessa jornada e as conquistas realmente surgem com o tempo! Agradeço a todos de coração por todo apoio que recebi em mais uma etapa da minha vida.

Agradeço...

À Deus por me dar forças, paciência e sabedoria para superar as dificuldades e por sempre me direcionar para o melhor caminho.

À minha família, em especial meus pais Júlia e Donizeti (in memoriam) que são a base da realização dos meus objetivos e sonhos. À minha irmã Natália e meu irmão Fábio por sempre me apoiarem e acreditarem em mim. Agradeço por toda a paciência e auxílio na minha caminhada e por fazerem parte de um momento tão importante na minha história.

À minha querida orientadora Dra. Carla Barbosa Nonino que me permitiu realizar um sonho, com muitos momentos de aprendizado, amizade, compreensão, trabalho em equipe e exemplo de profissionalismo e alegria que irradiava a todos que a rodeiam. Muito obrigada por confiar em mim.

Aos meus amigos do laboratório de estudos em nutrigenômica (LEN) que me ensinaram a importância do trabalho em equipe e pela oportunidade em aprender cada vez mais sobre pesquisa, de uma forma profissional, mas não menos divertida. Ao Bruno Parenti por me escutar, me apoiar e me incentivar nos momentos difíceis e por se mostrar um amigo para a vida toda. À Carolina Nicoletti, minha querida veterana que sempre esteve disposta a me passar seus conhecimentos, além de ser uma incrível companheira para todos os momentos. À Marcela Pinhel e Drielle Quinhoneiro pela paciência e muitos momentos de conversas, discussões, brincadeiras e muito aprendizado e crescimento conquistados nesses dois anos e meio de mestrado. A Natália Yumi pela dedicação, amizade e ensinamentos que me proporcionou no período das análises genéticas.

À Luciana Martins, Gabriel Franco e Carolina Malek pela amizade e momentos prazerosos vividos com toda equipe.

À Priscila Fassini pela paciência, dedicação, disponibilidade e amizade durante o período de coleta de dados do meu mestrado.

Ao Dr. Júlio Sérgio Marchini, Dra. Vivian Marques Miguel Suen e toda equipe da Nutrologia por me ajudarem grandemente na seleção e coleta de dados das pacientes hospitalizadas. Às nutricionistas Mayara Assoni, Marina Lutzoff, Elaine Hillesheim e Jowanka Amorim pela ajuda e trocas de experiências no decorrer da coleta de dados.

Ao Dr. Wilson Salgado Junior pelo profissionalismo e compromisso em ajudar na seleção e realização das biópsias das

pacientes, assim como os médicos João, Daniel, Gaspar e Akira por auxiliarem durante esse período.

Ao Centro de Medicina Genômica, em especial a Ana Júlia pela disponibilidade em auxiliar nas técnicas de biologia molecular.

As enfermeiras por toda assistência fornecida nas coletas com as participantes do estudo.

As participantes do estudo pela paciência, compreensão, dedicação e disponibilidade para realização de todas as coletas.

À minha segunda família Marina Costa, Vanessa Duarte, Andressa Duarte, Camilo Ferreira, Maria Aparecida Marcon, Miguel Ribeiro, André Galiano, Juliana Sanches, Amanda Vieira e Juliana Tasca por sempre me acolherem com muito carinho, além de sempre me apoiarem e me ajudarem em muitos momentos da minha vida.

Aos meus amigos Josiane Vettori, Tiago Garcia, Leonardo La Serra, Luana Sella, Roberta Knack, Livia Taverna, Sofia Ribeiro, Camila Brandão e Rafaella Bianchi pelos momentos de trocas de experiências, aprendizado, brincadeiras e amizade.

Aos meus vários amigos que de alguma maneira me ajudaram ou me proporcionaram momentos prazerosos e felizes.

Ao secretário Emerson Quirino de Oliveira do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP pela atenção no decorrer dessa etapa.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do meu projeto por meio de bolsa de mestrado e do auxílio à pesquisa regular.

“Trabalhe no lugar certo e com as pessoas certas. As conquistas surgem com o tempo.”

(Donizeti Aparecido de Oliveira - in memoriam)

Resumo

RESUMO

CORTES-OLIVEIRA, C. **Expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética.** 2015. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2015.

Vários genes já foram descritos com a capacidade de intervir na regulação do metabolismo energético, perda de peso, além da manutenção e estabilidade da gordura corporal, atuando no controle de diferentes vias metabólicas. Estudos têm mostrado claramente que a restrição energética é capaz de alterar a expressão gênica, influenciando a perda ponderal em pessoas com obesidade após diferentes tratamentos. Devido a maior facilidade no acesso por meio de biópsia, foi optado para o presente estudo a coleta de tecido adiposo subcutâneo. Portanto, o objetivo do presente estudo foi verificar a expressão dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* em tecido adiposo subcutâneo abdominal de mulheres com obesidade grau III, antes e após intervenção dietética hipocalórica e associar com variáveis antropométricas, taxa metabólica de repouso (TMR) e oxidação de substratos. A amostra foi composta por 11 mulheres com obesidade grau III submetidas à intervenção dietética por seis semanas e 10 mulheres eutróficas. Tratou-se de um estudo longitudinal, no qual foram coletadas medidas antropométricas de peso, estatura, índice de massa corporal (IMC) e circunferência abdominal (CA), composição corporal (massa corporal magra e massa gorda) por bioimpedância elétrica, TMR por calorimetria indireta e análise de expressão gênica por PCR em tempo real. Houve diminuição significativa de peso, IMC, massa corporal magra, massa gorda e TMR após intervenção dietética, porém, não verificou-se diferença estatisticamente significativa quando a taxa metabólica de repouso foi ajustada pelo peso e massa corporal magra. Ao comparar os dois grupos do estudo, verificou-se diferença significativa para os indicadores de peso, IMC, CA, massa corporal magra, massa gorda, TMR e oxidação de lipídio, tanto no momento pré como no pós-intervenção dietética. A expressão do gene *UCP3* apresentou redução significativa após 6 semanas de intervenção dietética hipocalórica ($p=0,004$). Houve correlação positiva entre a expressão do gene *UCP2* e perda de peso em quilogramas ($r=0,645$, $p=0,032$) e porcentagem ($r=0,727$, $p=0,011$) no grupo de mulheres que receberam dieta hipocalórica. Já a análise da correlação entre a expressão dos genes do estudo com a oxidação de substratos antes e após intervenção dietética, verificou-se resultados positivos dos genes *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* na oxidação de carboidrato e negativos dos genes *PLIN1* e *PPARG2* na oxidação de lipídios. Conclui-se que a intervenção dietética hipocalórica proporciona perda de peso, diminuição de medidas antropométricas e influencia na expressão dos genes estudados em mulheres com obesidade grau III.

Palavras chaves: Obesidade. Intervenção dietética. Perda de peso. Expressão gênica.

ABSTRACT

CORTES-OLIVEIRA, C. **Expression of genes related to energy and lipid metabolism in women with obesity grade III before and after dietary intervention.**2015. Dissertation (Master's degree) – Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo. Ribeirão Preto, 2015.

Several genes have been described with the ability to intervene in the regulation of energy metabolism, loss of weight and stability in addition to maintaining body fat, acting on the control of different metabolic pathways. Studies have clearly shown that caloric restriction can alter gene expression influencing the weight loss in people with obesity after different treatments. Due to easier access through biopsy was chosen for this study collecting subcutaneous adipose tissue. Therefore, the aim of this study was to investigate the expression of genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* in abdominal subcutaneous adipose tissue of women with obesity grade III before and after hypocaloric dietary intervention and associate with anthropometric, metabolic rate (RMR) and substrate oxidation. The sample consisted of 11 women with obesity grade III submitted to dietary intervention for six weeks and 10 healthy women. This was a longitudinal study in which anthropometric measurements were taken of weight, height, body mass index (BMI) and waist circumference (WC), body composition (lean body mass and fat mass) by bioelectrical impedance, TMR calorimetry indirect and gene expression analysis by real-time PCR. There was a significant decrease in weight, BMI, lean body mass, fat mass and TMR after dietary intervention, however, there was no statistically significant difference when the resting metabolic rate was adjusted for weight and lean body mass. When comparing the two study groups, there was difference for weight indicators, BMI, WC, lean body mass, fat mass, TMR and lipid oxidation in both the pre and post time dietary intervention. The expression of *UCP3* gene showed a significant reduction after 6 weeks of hypocaloric dietary intervention ($p=0,004$). There was a positive correlation between the expression of *UCP2* gene and loss of weight in kilograms ($r=0,645$, $p=0,032$) and percentage ($r=0,727$, $p=0,011$) in the group of women who received low-calorie diet. However, the analysis of the correlation between the expression of genes to study the oxidation of substrates before and after dietary intervention, there were positive results of *UCP3* gene, *PLIN1* and *PPARG2* in carbohydrate oxidation and the negative *PLIN1* and *PPARG2* genes in lipid oxidation. We conclude that hypocaloric dietary intervention provides weight loss, reduction of anthropometric measures and influences the expression of genes studied in women with morbid obesity.

Key words: Obesity. Dietary intervention. Weight loss. Gene expression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma das pacientes selecionadas para o estudo.

Figura 2. Delineamento experimental do estudo. G1 – Intervenção dietética.

Figura 3. Delineamento experimental do estudo. G2 – Controle.

Figura 4. Aparelho de Bioimpedância Elétrica e posicionamento dos eletrodos no momento da avaliação.

Figura 5. Avaliação da taxa metabólica de repouso de paciente com obesidade grau III.

Figura 6. Expressão relativa do gene *ADRB3* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

Figura 7. Expressão relativa do gene *UCP1* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

Figura 8. Expressão relativa do gene *UCP2* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

Figura 9. Expressão relativa do gene *UCP3* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

Figura 10. Expressão relativa do gene *PLIN1* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

Figura 11. Expressão relativa do gene *PPARG2* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

Figura 12. Correlação entre expressão do gene *UCP2* e perda de peso em quilogramas (A) e porcentagem (B) de pacientes com obesidade grau III.

Figura 13. Correlação entre expressão do gene *UCP3* e oxidação de carboidrato (CHO) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

Figura 14. Correlação entre expressão do gene *UCP3* e oxidação de carboidrato (CHO) pós-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

Figura 15. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de carboidrato (CHO) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

Figura 16. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de carboidrato (CHO) pós-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

Figura 17. Correlação entre expressão do gene *PPARG2* e oxidação de carboidrato (CHO) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

Figura 18. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de lipídio (LIP) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

Figura 19. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de lipídio (LIP) pós-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

Figura 20. Correlação entre expressão do gene *PPARG2* e oxidação de lipídio (LIP) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Equação de JAKICIC (1998) para correção da massa corporal magra (MCM) de mulheres com obesidade.

Quadro 2. Equações de Weir (1949) para estimativa da taxa metabólica de repouso e de Frayn (1983) para estimativa de oxidação de glicose e lipídio.

Quadro 3. Valores de referência de indicadores bioquímicos utilizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

Quadro 4. Sondas de hidrólise para os genes avaliados no presente estudo.

Quadro 5. Sondas de hidrólise para os genes de referência selecionados para o presente estudo.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Histórico familiar de sobrepeso/obesidade, doença cardiovascular, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemias das pacientes do grupo intervenção (G1) e eutróficas (G2).

Tabela 2. Consumo alimentar de pacientes com obesidade grau III (G1) antes e durante intervenção dietética e mulheres eutróficas (G2).

Tabela 3. Antropometria, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos de pacientes com obesidade grau III antes e após intervenção dietética (G1) e eutróficas (G2).

Tabela 4. Taxa metabólica de repouso em termos absolutos e ajustados por peso e massa corporal magra do grupo G1 antes e após 6 semanas de intervenção dietética hipocalórica e do grupo G2.

Tabela 5. Indicadores bioquímicos de pacientes com obesidade grau III (G1) antes e após intervenção dietética e de mulheres eutróficas (G2).

Tabela 6. Análise de regressão linear múltipla mostrando a contribuição da expressão dos genes avaliados na porcentagem de perda de peso.

Tabela 7. Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão dos genes *UCP3* e *PPARG2* na oxidação de carboidrato.

Tabela 8. Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão do gene *PPARG2* na oxidação de lipídio.

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>ADRB3</i>	Beta-3-adrenoreceptor
AGL	Ácidos Graxos Livres
CA	Circunferência abdominal
cDNA	DNA complementar
cm	Centímetro
CT	Colesterol Total
DAC	Doença Arterial Coronariana
DP	Desvio Padrão
ETA	Efeito térmico dos alimentos
g	Gramas
GEAF	Gasto energético da atividade física
HCFMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo
HDL	<i>High Density Lipoproteins</i>
IMC	Índice de massa corporal
Kcal	Quilocaloria
Kg	Quilograma
LDL	<i>Low Density Lipoproteins</i>
MCM	Massa corporal magra
MG	Massa gorda
m ²	Metros ao quadrado
OMS	Organização Mundial da Saúde
<i>PLIN1</i>	Perilipina1
<i>PPARG2</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama2
<i>PPARs</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas
qPCR	PCR em tempo real

RT – qPCR	Transcrição reversa por reação em cadeia da polimerase
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TAS	Tecido adiposo subcutâneo
TAV	Tecido adiposo visceral
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicerídeos
TMR	Taxa metabólica de repouso
<i>UCPs</i>	Proteínas desacopladoras
<i>UCP1</i>	Proteína desacopladora1
<i>UCP2</i>	Proteína desacopladora2
<i>UCP3</i>	Proteína desacopladora3
%PP	Percentual de perda de peso

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
1.1 Obesidade	21
1.2 Consumo alimentar	22
1.3 Taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos	23
1.4 Genes.....	25
1.4.1 <i>ADRB3</i>	26
1.4.2 <i>UCPs</i>	26
1.4.3 <i>PLIN1</i>	28
1.4.4 <i>PPARG2</i>	28
2. OBJETIVOS	32
2.1Objetivos específicos	32
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	34
3.1. Casuística.....	34
3.2. Critérios de inclusão	34
3.3. Critérios de exclusão	35
3.4. Delineamento do estudo.....	35
3.5. Avaliação de hábitos de vida, presença de comorbidades e história familiar de sobrepeso/obesidade e doença cardiovascular (DCV)	37
3.6. Avaliação nutricional.....	38
3.6.1. Consumo alimentar	38
3.6.2. Antropometria.....	38
3.6.3. Avaliação da Composição Corporal	39
3.7. Avaliação da Taxa Metabólica de Repouso	40
3.8. Avaliação bioquímica	41
3.9. Coleta de tecido adiposo	42
3.10. Análise da expressão gênica.....	43
3.10.1. Extração de RNA.....	43
3.10.2. Procedimento de extração de RNA	43
3.10.3. Transcrição reversa por reação em cadeia de polimerase – RT – qPCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction) – Síntese de cDNA	44
3.10.4. Análise de Expressão Gênica – PCR em tempo real (qPCR)	44
3.10.5. Controle endógeno	45
3.11. Análise estatística	46
4. RESULTADOS	48
5. DISCUSSÃO	63
6. CONCLUSÃO	74
7. REFERÊNCIAS BOBLOGRÁFICAS	76
APÊNDICES	91
ANEXOS	98

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Neste tópico será descrita uma análise crítica sobre os temas diretamente relacionados ao desenvolvimento dessa dissertação. Dessa maneira, serão abordados os assuntos de obesidade, assim como sua etiologia e conseqüências, consumo alimentar e intervenção dietética hipocalórica, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos, além da contribuição de determinados genes na perda de peso e desenvolvimento da obesidade.

1.1 Obesidade

A obesidade é definida como uma condição de acúmulo excessivo de tecido adiposo, ocasionado por um desequilíbrio do balanço energético, no qual a ingestão de energia excede o gasto energético ao longo do tempo. (CARVALHO, 2005; HUANG et al., 2009; CUNHA et al., 2007; FROOD et al., 2013). Além disso, a obesidade é um problema complexo, caracterizado por múltiplas interligações que contribuem para o seu desenvolvimento (FROOD et al., 2013).

A realidade mundial tem revelado o grande aumento da prevalência de sobrepeso e obesidade, não apenas em países desenvolvidos, mas também em desenvolvimento (DERAM & VILLARES, 2009; PI-SUNYER, 2009; HAIDAR & COSMAN, 2011). Nos últimos 20 anos, a incidência de obesidade triplicou nos países emergentes, principalmente após estes adotarem o estilo de vida ocidental, com maior ingestão energética associada ao sedentarismo (HAIDAR & COSMAN, 2011). Estudos têm apontado a obesidade como um fator de risco significativo para o aumento da morbidade e mortalidade, principalmente por estar associada a diversas comorbidades, como doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão, câncer, dentre outras (PI-SUNYER, 2009; HAIDAR & COSMAN, 2011). Atualmente o excesso de peso é considerado o sexto fator de risco mais influente no aumento do desenvolvimento de doenças no mundo (WHO, 2011; WHO, 2003). Segundo Malta et al. (2014), houve um aumento da prevalência de excesso de peso em ambos os sexos e em todas as faixas etárias e níveis de escolaridade, porém, foi observado um aumento maior entre as mulheres que se encontravam na faixa etária mais jovem e com maior escolaridade.

No Brasil, essa prevalência está crescendo de forma significativa nos últimos 30 anos, segundo dados do Ministério da Saúde, e torna-se mais preocupante por estar diretamente associada com outras doenças crônicas não transmissíveis, como a hipertensão arterial sistêmica e o diabetes mellitus (BRASIL, 2006). O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) confirma o real aumento da incidência de obesidade entre a população brasileira, com maior prevalência na população feminina, em um período de tempo de 35 anos (IBGE, 2010). De acordo com Vigitel (Pesquisa telefônica feita pelo Ministério da Saúde), mais da metade da população brasileira encontra-se acima do peso (51%), sendo que em 2006 o percentual era de 43%. Quando analisado por sexo, os homens atingem uma porcentagem de 54% e as mulheres 48%. Com relação à obesidade, também houve aumento significativo, passando de 11% em 2006 para 17% em 2012 (BRASIL, 2013).

Em associação com a alta prevalência de excesso de peso e desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, também ocorre o aumento dos custos com o tratamento dessas complicações. Estima-se que aproximadamente 16% da carga global de doenças sejam provenientes do excesso de peso e obesidade e, no mundo desenvolvido, 2 a 7% do total dos custos de cuidados de saúde são atribuídos a essa condição (HAIDAR & COSMAN, 2011).

Para melhor caracterização da obesidade, a Organização Mundial da Saúde (OMS) determinou uma classificação de diferentes graus por meio do Índice de Massa Corporal (IMC), definindo obesidade grau I para IMC entre 30 e 34,9 kg/m², obesidade grau II para IMC de 35 a 39,9 kg/m² e obesidade grau III para IMC \geq 40 kg/m² (OMS, 2004).

1.2 Consumo alimentar

Nas últimas décadas houve grande modificação do estilo de vida da população mundial e a alteração do padrão alimentar tem se tornado um fator preocupante para a saúde pública (PEARCEY & CASTRO, 2002; YUNSHENG et al., 2003; NONINO et al., 2007). Com a urbanização, a população está mais exposta ao consumo de alimentos processados de alta densidade calórica e, associado à diminuição do gasto energético devido a baixa prática de atividade física, o aumento do peso e dos riscos de desenvolver doenças crônicas não transmissíveis ficaram mais evidentes (MALTA et al., 2014). Sabe-se também que existem vários fatores

biológicos, sociais e ambientais que interagem entre si e influenciam no comportamento alimentar individual, dentre eles o preço mais acessível e a disponibilidade dos alimentos, o uso do alimento como forma de recompensa, além do significado cultural no ato de comer (HUANG et al., 2009; FROOD et al., 2013).

As intervenções no estilo de vida, principalmente no comportamento alimentar ainda é o tratamento da obesidade mais realizado nos dias atuais, considerando ser uma alternativa menos invasiva e com menores custos, porém, a adesão dos pacientes aos programas de educação nutricional ainda é baixa (FROOD et al., 2013).

O controle do apetite é um mecanismo complexo do organismo e envolve a coordenação entre fatores fisiológicos e ambientais (BLUNDELL et al., 2012). Os primeiros estudos abordando esse tema surgiram baseados na influência dos sinais do metabolismo de glicose, aminoácidos ou proteínas e tecido adiposo (MAYER, 1955; MELLINKOFF et al., 1956; KENNEDY, 1953), porém, atualmente sabe-se que existem influências do tecido adiposo e do trato gastrointestinal no sistema nervoso central, atuando na ingestão alimentar final do indivíduo (MORTON & SCHWARTZ, 2001; KEESEY & POWLEY, 2008). Sabe-se que os principais sinais são provenientes da ação da leptina no tecido adiposo e outros hormônios secretados por células específicas do trato gastrointestinal ou órgãos associados como grelina, PYY, peptídeo tipo glucagon 1 (GLP-1), colecistoquinina (CCK), amilina e insulina (BLUNDELL et al., 2012). Todas essas vias metabólicas envolvidas no controle do apetite evidenciam o complexo mecanismo de regulação do peso corporal.

Assim como o consumo alimentar, a taxa metabólica de repouso também apresenta papel importante no processo de desenvolvimento da obesidade (JAIME et al., 2012).

1.3 Taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos

O gasto energético diário é constituído pela soma da taxa metabólica de repouso (TMR), efeito térmico dos alimentos (ETA) e do gasto energético da atividade física (GEAF) do indivíduo, sendo a TMR responsável por 60 a 70% da energia expedita no dia. A atividade física é o componente mais variável do gasto energético, atingindo de 20 a 40% do dispêndio de energia diário (SCHNEIDER &

MEYER, 2007; MARTIN et al, 2007). O ETA envolve a energia despendida no processo de digestão, absorção e metabolismo dos alimentos ingeridos (MELO et al., 2008), sendo sua variação dependente da quantidade e natureza dos nutrientes consumidos (MELO et al., 2008; AMORIM & GOMES, 2003).

Alguns estudos mostram também a influência da TMR sobre a ingestão alimentar do indivíduo, ou seja, a variação desse componente atuando na resposta fisiológica do controle do apetite (BLUNDELL et al., 2012), porém, a quantidade de calorias ingerida está relacionada com a densidade energética do alimento disponível (ELLO-MARTIN et al., 2005; ROLLS, 2000) não sendo considerada a causa do aumento do peso ou obesidade (BLUNDELL et al., 2012).

A determinação da TMR tem papel importante em programas de intervenção e controle do peso, objetivando verificar o balanço energético e auxiliar na melhor conduta a ser adotada para o paciente com obesidade (RUIZ et al., 2011). Sabe-se que as medidas antropométricas são responsáveis por alterar os valores de TMR (SPEAKMAN & WESTERTERP, 2010), principalmente as medidas de massa corporal magra (MCM) e massa gorda (MG) (BONGANHA et al., 2009; HILL et al., 2012).

Um dos métodos mais utilizados atualmente para a determinação da TMR é a calorimetria indireta (CI), que mede a produção corporal de energia a partir da reação de trocas gasosas do organismo com o meio ambiente, ou seja, é realizado o cálculo do oxigênio consumido (VO_2) e gás carbônico produzido (CO_2) (FRANKENFIELD et al., 2005). Além disso, a CI é considerada um método simples e não invasivo, proporcionando uma avaliação confiável do gasto energético de um indivíduo (DIENER, 1997). Ainda a partir da determinação dos valores de VO_2 e CO_2 , é possível calcular a taxa de oxidação dos substratos energéticos provindos da glicose e lipídios (SUEN et al., 2003). Essa medida refere-se à conversão da energia química dos nutrientes em energia química armazenada na forma de ATP (adenosina trifosfato), sendo liberada na forma de calor durante o processo de oxidação (SIMONSON & DEFRONZO, 1990).

A razão entre os valores de VO_2 e CO_2 é conhecida como quociente respiratório (QR) e indica o tipo de substrato que está sendo oxidado no momento da avaliação (FERRANNINI, 1988). Cada substrato energético consome diferentes quantidades de oxigênio e produz diferentes valores de gás carbônico na sua oxidação, influenciando diretamente nos valores de TMR (DIAS et al., 2009).

Além disso, o gasto energético do tecido adiposo é reduzido quando comparado com órgãos internos e músculos, e a importância desse tecido para a variação do gasto energético total ainda não está totalmente esclarecida e tem sido extensivamente estudada (NOOKAEW et al., 2013). Somado a isso, sabe-se que fatores genéticos podem influenciar na TMR, incluindo a ação de genes na regulação do metabolismo energético, composição corporal e obesidade (DULLOO & SAMEC, 2001; CHOI et al., 2013; PEDERSEN et al., 2005).

1.4 Genes

Sabe-se que a obesidade é uma doença multifatorial, incluindo fatores nutricionais, aspectos genéticos, metabólicos, psicossociais, culturais, entre outros, atuando tanto na origem como na manutenção desta doença (CARVALHO, 2005; ORDOVAS et al., 2011; HINNEY et al., 2010).

Alguns genes já foram descritos com a capacidade de intervir na manutenção e estabilidade da gordura corporal ao longo do tempo, pois atuam no controle de vias eferentes (leptina, nutrientes, sinais nervosos, entre outros), de mecanismos centrais (neurotransmissores hipotalâmicos) e de vias aferentes (insulina, catecolaminas e sistema nervoso autônomo (SNA)) (MARTINEZ & FRÜHBECK, 1996). De acordo com a literatura, fatores genéticos podem ser responsáveis por 50 a 80% da variação do IMC (HINNEY et al., 2010; MORELES et al., 2013). Segundo DERAM & VILLARES (2009), existem mais de 600 genes com influência na massa corporal e regulação do metabolismo energético, ou seja, esses genes foram associados positivamente à obesidade em humanos. Além disso, estudos têm mostrado claramente que alterações no estilo de vida são capazes de alterar a expressão gênica, incluindo mudança no padrão alimentar e perda de peso (FENECH et al, 2011; MARDINOGLU et al., 2015) e, pesquisas recentes evidenciam que genes associados à obesidade podem influenciar a perda de peso em pessoas com obesidade após diferentes tratamentos (BERISHA et al., 2011; ARVIDSSON et al., 2004). Com base na literatura revisada, destacam-se os seguintes genes: *ADBR3* (beta-3-adrenoreceptor), *UCPs* (proteínas desacopladoras), *PLIN1* (perilipina1) e *PPARG2* (receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama2) (BOUCHARD et al, 1998).

1.4.1 *ADRB3*

O gene *ADRB3* está localizado no cromossomo 8, na região 8p12, expresso especificamente no tecido adiposo, sendo considerado o principal receptor envolvido na mobilização de lipídios e termogênese nessa região (KUROKAWA et al., 2008; URSINO et al., 2009; SALIBA et al., 2014).

Sabe-se que as catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) são responsáveis por ativar os receptores adrenérgicos, principalmente no tecido adiposo (SCHMIDT et al., 2014). Com isso, o sistema adrenérgico está associado ao balanço energético e controle do peso corporal e, a variação da expressão do gene em questão pode contribuir diretamente com a dificuldade de perda de peso (MASUO & LAMBERT, 2011; SHIWAKU et al, 2003).

A análise de diferentes polimorfismos do *ADRB3* tem sido bastante explorados na obesidade (KUO et al., 2014; SALIBA et al., 2014; TAKENAKA et al., 2012; BRONDANI et al., 2014), porém, estudos avaliando a expressão desse gene em tecido adiposo subcutâneo nessa doença são escassos na literatura.

1.4.2 *UCPs*

As proteínas desacopladoras (*UCP1*, *UCP2* e *UCP3*) constituem uma família de proteínas encontradas na membrana interna mitocondrial. No processo de síntese de trifosfato de adenosina (ATP), a cadeia respiratória transporta prótons e elétrons através da membrana interna mitocondrial para o espaço intermembranas, surgindo um gradiente de prótons. No retorno dos prótons para a matriz mitocondrial, as proteínas ATP-sintases utilizam a energia para fosforilar o ADP e sintetizar o ATP. Nesse processo, a UCP que também se encontra na matriz interna da mitocôndria serve como um canal alternativo para que os prótons atravessem de volta para a matriz. Assim, quando a UCP é estimulada, a energia não é aproveitada para fosforilar o ADP, gerando apenas calor. Com isso, a ativação dessa via alternativa resulta, indiretamente, em maior oxidação de substratos energéticos, diminuindo a eficiência da síntese de ATP e produzindo mais calor, com implicações na regulação da temperatura, do gasto de energia e peso corporal (BOSCHINI & GARCIA-JÚNIOR, 2005; HARROLD et al., 2000; MILLET et al., 1997).

Apresentam papel importante no metabolismo energético das células, gasto energético de repouso, oxidações do substrato, diminuição das espécies reativas de oxigênio, regulação dos ácidos graxos livres e variação do peso corporal (BOUCHARD et al., 1998; DEPIERI et al., 2004; BRONDANI et al., 2014).

A *UCP1* é localizada no cromossomo 4 na região 4q28-q31 e é expressa principalmente no tecido adiposo marrom (TAM), desempenhando influência importante na termogênese, regulação térmica e controle do peso corporal (KLAUS et al., 2004). A *UCP1* atua na produção de energia sob a forma de calor na membrana interna da mitocôndria, apresentando grande influência no desenvolvimento da obesidade (DEPIERI et al., 2004; KLAUS et al., 2012).

A *UCP2* é localizada no cromossomo 11, na região 11q13, sendo encontrada em vários tecidos como, TAM, TAB, músculo esquelético, rim, pâncreas e células do sistema imune (MINGRONE et al., 2003; DIANO & HORVATH, 2012). A *UCP2* influencia não só a produção mitocondrial de ATP, mas também a produção de espécies reativas de oxigênio, assim como atua na regulação dos mecanismos de homeostase, como ingestão e comportamentos de recompensa alimentar, gasto energético e glicemia (TODA & DIANO, 2014). Este gene apresenta um papel importante na regulação do controle neuroendócrino de ingestão alimentar por meio da ativação do receptor de melanocortina-4 (MC4R), inibindo a ingestão de alimentos e aumentando o gasto energético. Com relação à homeostase da glicose, o gene *UCP2* está envolvido na secreção de insulina glicose dependente em células β pancreática e na regulação da secreção de glucagon a partir de células α pancreática (TODA & DIANO, 2014).

Já a *UCP3* é localizada no cromossomo 11, na região 11q.13.4, e é expressa principalmente no músculo esquelético e também no tecido adiposo marrom, apresentando papel importante de mediador na termogênese adaptativa (DEPIERI et al., 2004). A *UCP3* também apresenta papel chave na regulação da oxidação de ácidos graxos mitocondriais e na prevenção de danos oxidativos produzidos por radicais livres (CIOFFI et al., 2009). Sabe-se também que esse gene apresenta envolvimento na regulação do metabolismo energético e controle do peso corporal e alguns estudos mostram importante função na modulação do uso de lipídios e glicose como substrato energético, além de sugerir possíveis ações na resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2 (DIANO & HORVATH, 2012; TODA & DIANO,

2014; BUSIELLO et al., 2015). A *UCP3* é regulada pela disponibilidade e metabolismo de substratos energéticos como lipídio e glicose (TSUBOYAMA-KASAOKA & EZAKI, 2001). A entrada desses substratos no músculo esquelético leva ao aumento da expressão da *UCP3*, conseqüentemente ao aumento do gasto energético (BOSCHINI & GARCIA-JÚNIOR, 200).

1.4.3 *PLIN1*

As perilipinas (*PLIN*) são proteínas altamente fosforiladas que se localizam na superfície dos adipócitos, sendo a *PLIN1* encontrada com maior abundância nessa região (SMITH & ORDOVÁS, 2012).

A *PLIN1* é localizada no cromossomo 15, na região 15q26, e apresenta papel fundamental na regulação de mobilização e deposição de triglicerídeos, além de proteger o núcleo lipídico da ação das lipases, auxiliando na formação de gotículas de gordura (KERN et al., 2004; DERAM et al., 2008; RUIZ et al., 2011). Estudo realizado em humanos mostrou que a expressão das perilipinas está elevada em indivíduos portadores de obesidade, podendo ser justificada como um mecanismo compensatório para limitar o processo de lipólise basal, favorecendo o desenvolvimento da obesidade (KERN et al., 2004).

1.4.4 *PPARG2*

Os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (*PPARs*) são fatores de transcrição pertencentes à família de receptores nucleares e são localizados no cromossomo 3, na região 3p25. O gene *PPARG* apresenta regiões promotoras alternativas que possibilitam a formação de três isoformas diferentes, sendo a isoforma *PPARG2* a de maior expressão em tecido adiposo (MONSALVE et al., 2013; TAVARES et al., 2007). O *PPARG2* apresenta ação no controle da expressão de genes envolvidos na diferenciação de adipócitos e homeostase de glicose e lipídeos, além de ser um dos genes mais estudados como potencialmente ligados ao desenvolvimento da obesidade (SWARBRICK et al., 2001; MASUAD et al., 2003; OCHOA et al., 2008; RAZQUIN et al., 2011).

Medina-Gomes et al. (2007) mostrou em seu estudo que o *PPARG2* impede a lipotoxicidade em diferentes mecanismos, incluindo a promoção da expansão do

tecido adiposo, o aumento da capacidade lípido-tampão em órgãos periféricos (fígado, músculos e células β do pâncreas) e resposta proliferativa das células β para resistência à insulina. Com isso, o *PPARG2* atua na proteção dos tecidos não adiposos contra sobrecarga excessiva de lipídios e mantém a função normal de outros órgãos (fígado e músculo esquelético) (GRYGIEL-GÓRNIAK, 2014). Além dessa atividade adipogênica, o *PPARG2* também é importante no metabolismo lipídico, regulando os genes que participam da liberação, transporte e armazenamento de ácidos graxos, tais como lipase lipoprotéica (LDL) e o transportador de ácidos graxos CD36 (REN et al., 2002; MEDINA-GOMES et al., 2007; LEHRKE & LAZAR, 2005; GRYGIEL-GÓRNIAK, 2014).

Os dados supracitados evidenciam o importante papel de vários genes na termogênese e regulação do gasto energético e metabolismo lipídico. Entretanto, para a obtenção de perda de peso e, conseqüentemente, alterações no perfil lipídico de indivíduos obesos, a intervenção dietética através de restrições da ingestão energética total (dietas hipocalóricas) é a opção de tratamento mais comumente utilizada (STEEMBURGO et al., 2007). Segundo estudo realizado por Cowburn et al. (1997), a restrição energética moderada (aproximadamente 1200 kcal/dia) é o suficiente para obtenção de diminuição de massa corporal. A composição da dieta também deve ser considerada, pois a variação das fontes energéticas influencia diretamente a composição corporal no processo de perda de peso (ILARDE & TUCK, 1994; LEAN et al., 1989). Portanto, a padronização da distribuição das fontes energéticas em um processo de intervenção dietética é fundamental para resultados mais fidedignos.

O tecido adiposo humano é responsável pela secreção de diversos hormônios, sendo o subcutâneo e visceral os principais tipos de tecido adiposo em adultos (ARMANI et al., 2010; HAAS et al., 2012). Diferenças na expressão gênica entre pré-adipócitos e adipócitos e, entre tecido adiposo subcutâneo e visceral tem sido relatado na literatura (URS et al., 2004; LEFEBVRE et al., 1998; MODESITT et al., 2012). O tecido adiposo visceral (TAV) é associado com resistência à insulina, diabetes, hipertensão, aterosclerose e esteatose hepática, enquanto o tecido adiposo subcutâneo (TAS) apresenta melhor resposta à insulina, secretando maiores concentrações de adiponectina e menor quantidade de citocinas

inflamatórias (GILL et al., 2011). Essas diferenças podem ser esperadas, dado que os adipócitos nos tecidos subcutâneo e visceral são originados de diferentes células progenitoras que exibem padrões específicos de expressão gênica (GERHARD et al., 2014).

Existe na literatura estudos de expressão gênica do tecido adiposo subcutâneo e visceral de indivíduos com obesidade (KORSIC et al., 2012; KARASTERGIOU, et al., 2013). Porém, em indivíduos saudáveis ou em pacientes sem necessidade de cirurgia, a coleta de amostras de órgãos internos, tais como TAV pode ser impossível devido a limitada acessibilidade aos tecidos e também por razões éticas. Sendo assim, a investigação em tecidos mais acessíveis, tais como o TAS, que pode ser obtido por meio de biópsia, vem sendo utilizados em estudos recentes (AFMAN & MULLER, 2012; KORSIC et al., 2012).

Objetivos

2. OBJETIVOS

Verificar a expressão dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* em tecido adiposo subcutâneo abdominal de indivíduos com obesidade grau III, antes e após intervenção dietética para perda de peso e associar com taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos.

2.1 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o consumo alimentar antes e durante a intervenção dietética de indivíduos com obesidade grau III e comparar com o grupo controle;
- ✓ Comparar a antropometria, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos de mulheres com obesidade grau III antes e após a intervenção dietética e com pacientes eutróficas;
- ✓ Avaliar os indicadores bioquímicos nos diferentes tempos e grupos estudados;
- ✓ Comparar a expressão dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1* e *PPARG2* antes e após intervenção dietética;
- ✓ Correlacionar a expressão dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1* e *PPARG2* com as variáveis antropométricas, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos nos dois momentos do estudo.

Casuística e Métodos

3. CASUÍSTICA E MÉTODOS

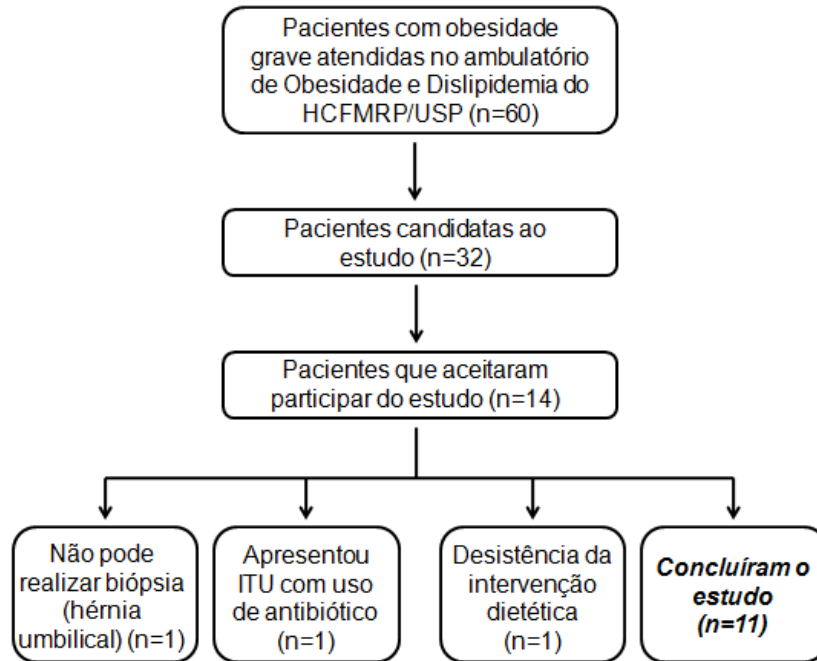
3.1. Casuística

Foram selecionados para o estudo 21 indivíduos, distribuídos em dois grupos. Grupo 1 – Intervenção dietética (G1) foi composto por 11 indivíduos do sexo feminino, com obesidade grau III (IMC $\geq 40\text{kg/m}^2$), de população miscigenada (PENA, et al., 2011) e com idade entre 21 e 50 anos, selecionadas para a hospitalização por 6 semanas para realização de intervenção dietética (dieta hipocalórica – 1200kcal/dia). Grupo 2 – Controle (G2) composto por 10 indivíduos também do sexo feminino, porém eutróficas (IMC entre 18,5 kg/m^2 a 24,9 kg/m^2), provenientes do Hospital Estadual que, por indicação médica realizaram procedimento cirúrgico de hérnia umbilical (incisional ou epigástrica) ou colelitíase sem colecistite aguda.

As participantes do estudo foram esclarecidas a respeito do protocolo da pesquisa, sendo incluídas somente as que concordaram com sua realização. A pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP (CAAE: 19442213.3.0000.5440).

3.2. Critérios de inclusão

Para o G1 participaram mulheres acompanhadas no ambulatório de Obesidade e Dislipidemia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP – USP). Para o G2 foram selecionadas mulheres com classificação nutricional de eutrofia, de acordo com o índice de massa corporal (Figura 1).



*ITU: Infecção do Trato Urinário

Figura 1. Fluxograma das pacientes selecionadas para o estudo.

3.3. Critérios de exclusão

Foram excluídas do estudo as pacientes que apresentavam distúrbios psiquiátricos, desistência da intervenção dietética, gestantes, lactantes, tabagistas, etilistas, portadoras de doenças e/ou que estavam realizando algum tratamento que influenciasse no metabolismo energético, além de pacientes que não puderam realizar o procedimento de biópsia.

3.4. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo de caráter longitudinal, sendo que a coleta de dados foi realizada em duas etapas no G1 e uma etapa no G2. A primeira etapa para o G1 foi realizada no início da hospitalização das pacientes na enfermaria de Nutrologia do HCFMRP – USP, na qual foram coletados dados de avaliação nutricional, incluindo medidas de peso, estatura, circunferência abdominal, análise da composição corporal, taxa metabólica de repouso, coleta de sangue para análise dos indicadores bioquímicos e questionário de hábitos de vida (antecedentes

peçoais e história familiar de sobrepeso/obesidade e doenças crônicas). No mesmo dia foi iniciada a intervenção dietética com dieta hipocalórica, compostas por leite, pão, frutas, legumes, arroz, feijão e carne, preparadas pelo Serviço de Nutrição e Dietética do Hospital das Clínicas e as refeições foram porcionadas pelas copeiras na Unidade Metabólica da enfermaria de Nutrologia. Houve um período de três dias de adaptação ao esquema alimentar do hospital, ou seja, as pacientes eram hospitalizadas com prescrição dietética de 1800 kcal no primeiro dia, com 1500 kcal no segundo dia e com 1200 kcal a partir do terceiro dia. Não houve alteração na qualidade de gordura ofertada para as pacientes, sendo apenas a quantidade desse nutriente ajustada de acordo com a recomendação das *Dietary Reference Intakes (DRIs)* (Institute of Medicine, 2005).

Na semana que antecedeu a internação, foram coletados três recordatórios alimentares de 24 horas, por meio de entrevista telefônica, para análise da ingestão alimentar das participantes fora do ambiente hospitalar.

As coletas das amostras de tecido adiposo subcutâneo do G1 para análise de expressão gênica foram realizadas em sala apropriada no ambulatório do Hospital das Clínicas do Campus de Ribeirão Preto, e todos os procedimentos foram realizados por médico cirurgião (Figura 2).

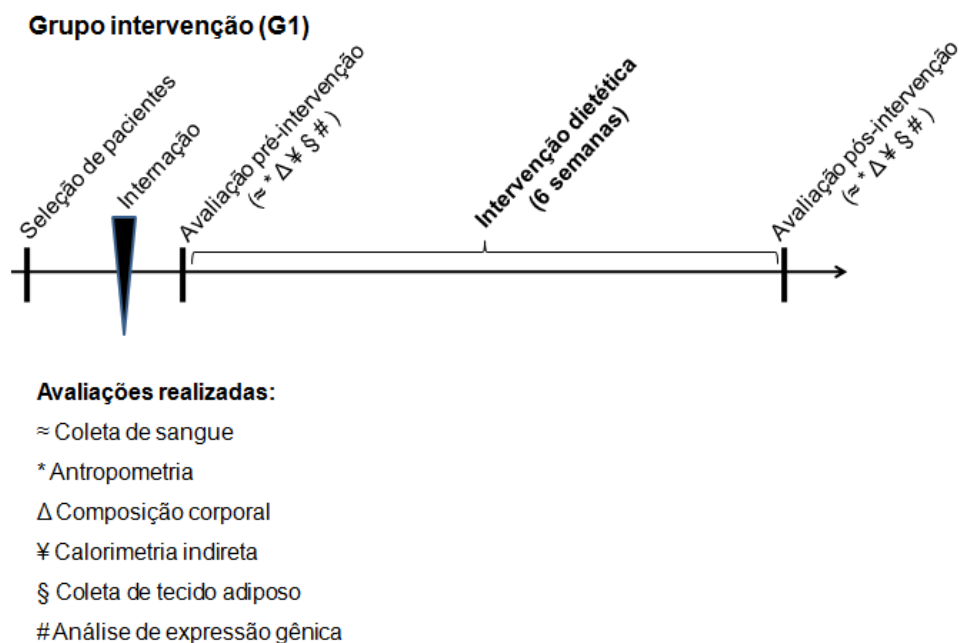


Figura 2. Delineamento experimental do estudo. G1 – Intervenção dietética.

A segunda etapa do presente estudo foi realizada após 6 semanas de intervenção dietética hipocalórica (1200 kcal/dia), e consistiu na realização de todos os procedimentos descritos anteriormente na etapa 1.

Para o G2 todas as avaliações foram realizadas em um único momento. A coleta do tecido adiposo subcutâneo abdominal foi realizada durante procedimento cirúrgico de hérnia umbilical (incisional ou epigástrica) ou colelitíase sem colecistite aguda pela mesma equipe médica do G1. Os três recordatórios alimentares de 24 horas foram coletados também por entrevista telefônica, na semana anterior ao procedimento cirúrgico. Todos os procedimentos foram realizados no Hospital Estadual da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (Figura 3).

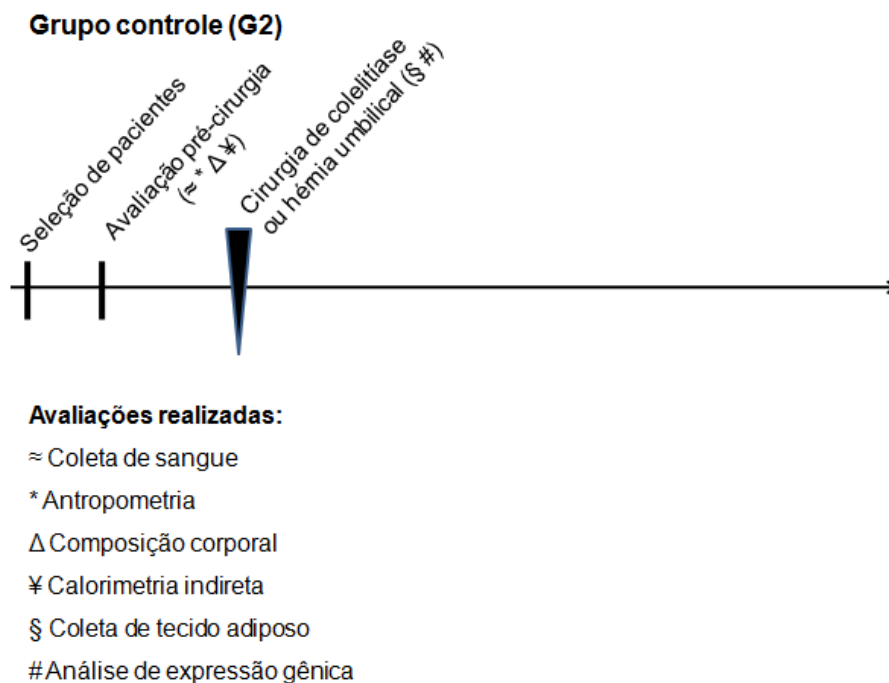


Figura 3. Delineamento experimental do estudo. G2 – Controle.

3.5. Avaliação de hábitos de vida, presença de comorbidades e história familiar de sobrepeso/obesidade e doença cardiovascular (DCV)

Foi aplicado um questionário no grupo G1 antes da intervenção dietética e no G2 antes do procedimento cirúrgico contendo informações sobre hábitos etilistas e tabagistas, presença de comorbidades como diabetes mellitus, dislipidemia,

hipertensão arterial e histórico familiar de sobrepeso/obesidade e presença de doença cardiovascular.

3.6. Avaliação nutricional

3.6.1. Consumo alimentar

Para avaliação do consumo alimentar foram coletados três recordatórios de 24 horas antes da hospitalização do G1 e antes da intervenção cirúrgica do G2. O consumo alimentar durante período de intervenção do G1 foi avaliado pelo esquema padrão seguido pela equipe da Unidade Metabólica, o qual as pacientes apresentavam 100% de aceitação pela dieta (Anexo C). O software Nutwin® foi utilizado para cálculo dos recordatórios alimentares e foram analisadas ingestão energética diária e de macronutrientes em gramas e porcentagem correspondente ao valor calórico total (VCT).

3.6.2. Antropometria

Para avaliação antropométrica foram utilizados os indicadores de peso, estatura, IMC e circunferência abdominal (CA). As participantes do estudo foram pesadas em balança digital Filizola® do tipo plataforma, com capacidade para 300 kg e precisão de 0,2 Kg. Para aferição da estatura foi utilizada haste vertical com graduação de 0,5 cm. O IMC foi obtido pela fórmula: $IMC = \text{Peso}/\text{Altura}^2$, sendo peso em quilogramas e a estatura em metros. A classificação do grau da obesidade foi realizada com adoção dos critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) de 1997.

No G1 a CA foi medida passando-se uma fita métrica inextensível com graduação de 0,1 mm na maior circunferência em torno da cicatriz umbilical e, no G2 entre o ponto médio da última costela com a crista ilíaca. Valores de cintura ≥ 80 cm para mulheres foram considerados alterados conforme critérios propostos pela Associação Brasileira para Estudos da Obesidade e da Síndrome Metabólica (Diretrizes Brasileiras de Obesidade, 2009).

A perda de peso absoluta foi calculada por meio da diferença entre o peso pré hospitalização e o peso após 6 semanas de intervenção dietética hipocalórica. O percentual de perda de peso representa a porcentagem de peso que foi perdido no período de intervenção do estudo.

3.6.3. Avaliação da Composição Corporal

Para análise da composição corporal foi utilizado aparelho de Bioimpedância Elétrica modelo Quantum BIA 450 Q – RJL System®. O exame foi realizado nas participantes após seis horas de jejum, com a bexiga urinária vazia, e com as mesmas deitadas, com pernas afastadas e braços em paralelo afastados do corpo.

Seguindo a descrição técnica do fabricante, quatro eletrodos adesivos foram colocados na mão e no pé das participantes: um na superfície dorsal do punho direito entre os ossos ulnar e rádio e outro no terceiro metacarpo, um na superfície anterior do tornozelo direito entre as porções proeminentes dos ossos e outro na superfície dorsal do terceiro metatarso. Uma corrente elétrica de baixa amplitude (entre 500 a 800 A) e frequência de 50 Khz foi aplicada nos eletrodos distais da mão e do pé.



Figura 4. Aparelho de Bioimpedância Elétrica e posicionamento dos eletrodos no momento da avaliação.

Os valores de resistência e reactância foram colocados em fórmulas específicas para análise da composição corporal de pessoas com obesidade,

obtendo-se assim os valores de massa corporal magra (MCM) (JAKICIC; WING; LANG, 1998). Para obtenção dos valores de massa gorda (MG), foi subtraída a quantidade de MCM (kg) do peso total (kg). A fórmula para o cálculo da MCM está apresentada no Quadro 1.

Quadro 1. Equação de JAKICIC (1998) para correção da massa corporal magra (MCM) de mulheres com obesidade.

$$\text{MCM (kg)} = 2,68 + (0,2 \times \text{Est}^2 / R) + 0,19 \times P + 2,55 \times \text{etnia (caucasianos} = 0, \text{ afro-descendentes} = 1) + 0,1157 \times \text{Est.}$$

Est = estatura em metros; P = peso em quilogramas; R = resistência em Ohm.

3.7. Avaliação da Taxa Metabólica de Repouso

A TMR foi obtida através da medida do consumo de oxigênio (O_2) e produção de gás carbônico (CO_2) pelo aparelho *QUARK-RMR (COSMED, Roma, Itália)*. O aparelho foi calibrado antes de cada avaliação, seguindo especificações do fabricante.

Para esta avaliação as participantes foram previamente orientadas a não realizarem exercícios físicos, não ingerir café ou chá preto 24 horas antes do exame, além de permanecerem em jejum de seis a oito horas.

O exame foi realizado em ambiente termoneutro, com temperatura ambiente controlada entre 21 a 24° C, baixa luminosidade e sem ruídos. As participantes permaneceram acordadas durante toda a avaliação e permaneceram deitadas em decúbito dorsal.

O consumo de oxigênio (VO_2) e a produção de gás carbônico (VCO_2) foram medidos durante 30 minutos, sendo os dez primeiros minutos descartados até as pacientes atingirem o *steady state* (WEIJS & VANSANT, 2010).

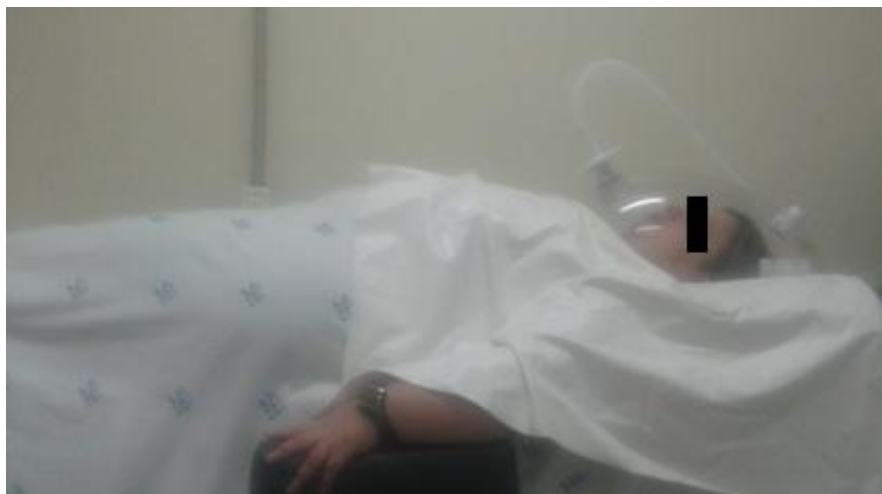


Figura 5: Avaliação da taxa metabólica de repouso de paciente com obesidade grau III.

As equações de Weir e Frayn foram utilizadas para estimativa da taxa metabólica de repouso e oxidação de glicose e lipídio, respectivamente. A fração de nitrogênio na urina (N₂) não foi considerado, de acordo com Weir, 1949, o erro máximo de exclusão foi inferior a 1 em 500.

Quadro 2. Equações de Weir (1949) para estimativa da taxa metabólica de repouso e de Frayn (1983) para estimativa de oxidação de glicose e lipídio.
Taxa metabólica de repouso (kcal/dia): $3,941 V_{O_2} (L/min) + 1,106 V_{CO_2} (L/min)$
Taxa de oxidação de glicose (g/min): $4,55 V_{CO_2} - 3,21 V_{O_2} - 2,6 N_2$
Taxa de oxidação de lipídio (g/min): $1,67 V_{O_2} - 1,67 V_{CO_2} - 1,92 N_2$
V_{O_2} = volume de oxigênio; V_{CO_2} = volume de gás carbônico; N_2 = nitrogênio na urina

3.8. Avaliação bioquímica

Foram realizadas análises dos indicadores bioquímicos de glicemia de jejum, colesterol total (CT), HDL colesterol (HDL-c), LDL colesterol (LDL-c) e triglicerídeos (TG) antes e após a intervenção dietética. Foram adotados os valores de referência padronizados no sistema HCFMRP-USP, descritos no Quadro 3.

Quadro 3. Valores de referência de indicadores bioquímicos utilizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

Exames Bioquímicos	Valores de Referência	Método de Análise
Glicemia de jejum (mg/dL)	70 - 100	Enzimático
Colesterol Total (mg/dL)	< 200	Calorimétrico
HDL colesterol (mg/dL)	> 35	Calorimétrico
LDL colesterol (mg/dL)	< 130	Calorimétrico
Triglicérides (mg/dL)	<150	Calorimétrico

3.9. Coleta de tecido adiposo

Antes de iniciar a intervenção dietética de 1200 kcal/dia do G1 (período de adaptação das pacientes), foram extraídas amostras de tecido adiposo de aproximadamente 2g através de um pequeno corte ao nível da cicatriz umbilical (biópsia), no quadrante superior direito, sob efeito de anestesia local. As amostras foram armazenadas em nitrogênio líquido e, posteriormente, estocadas a -80°C para preservação do RNA. O protocolo de extração de RNA foi realizado até uma semana após a coleta.

Tal procedimento foi realizado em ambos os grupos estudados, porém, no G2 esse tecido já é abordado durante o ato cirúrgico de colelitíase ou hérnia umbilical por meio de uma incisão de 1 cm na linha média supra-umbilical.

A coleta da segunda etapa foi realizada somente no G1, após 6 semanas do primeiro procedimento e todas as pacientes do G1 foram informadas sobre as duas coletas e somente participaram após consentimento.

A localização da coleta do tecido adiposo foi padronizada no presente estudo, considerando a variação da expressão gênica em diferentes regiões do abdômen, como evidenciado no estudo de Rehner et al. (2012). Vale ressaltar que todas as coletas foram realizadas pela mesma equipe médica e com todas as pacientes em jejum de pelo menos 3 horas.

3.10. Análise da expressão gênica

3.10.1. Extração de RNA

O RNA foi extraído a partir de 2g da amostra do tecido adiposo subcutâneo de pacientes com obesidade grau III submetidos à hospitalização e participação do Programa de perda de peso (G1) e pacientes eutróficos (G2), utilizando o método de extração fenolclorofórmio descrito por Chomczynski & Sacchi (1987), a partir de 1,0 mL de Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e, posteriormente foi armazenado em freezer à -80°C, garantindo estabilidade e preservação do RNA.

A quantificação do RNA foi realizada por meio do equipamento espectrofotômetro NanoDrop Lite (*Thermo Scientific*) nos comprimentos de onda de 260/280 e 230 nm com o objetivo de verificação do grau de pureza das amostras.

3.10.2. Procedimento de extração de RNA

Após a realização da biópsia, as amostras de tecido adiposo abdominal foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas no freezer -80° C até o momento de extração do RNA, realizada no prazo de até uma semana após a coleta. Para extração, o tecido coletado foi descongelado em gelo e posteriormente realizado o maceramento do mesmo com nitrogênio líquido. Em seguida, foi adicionado à amostra o volume de 1000 µl de Trizol, 250 µl de clorofórmio e 10 µl de glicogênio. Após essa etapa, ocorreu a separação da solução em fase aquosa e orgânica, sendo que o RNA permaneceu na fase aquosa. Transferiu-se o sobrenadante (fase aquosa) para um novo tubo, adicionou-se 250 µl de clorofórmio, agitou-se o tubo manualmente por 15 segundos e incubou-se no gelo por mais 5 minutos. Após esse procedimento, centrifugou-se à 12.000 g por 15 minutos à 4° C. Repetiu-se o procedimento de transferir o sobrenadante para um novo tubo e adicionou-se a mesma quantidade de isopropanol 100 % (gelado). Agitou-se manualmente por inversão e centrifugou-se novamente à 12.000 g por 15 minutos à 4° C. Posteriormente descartou-se cuidadosamente o sobrenadante de isopropanol e a amostra foi lavada por duas vezes com 1000 µl de etanol 70 %. Para

finalizar, descartou-se cuidadosamente o sobrenadante e o pellet foi eluído em água 20 µl de água RNase free. Posteriormente a amostra foi armazenada à -80° C.

3.10.3. Transcrição reversa por reação em cadeia de polimerase – RT – qPCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction) – Síntese de cDNA

O DNA complementar (cDNA) foi sintetizado por meio da reação de 50µl composto por 100ng de RNA total, utilizando kit High-CapacitycDNA Reverse Transcription® (*Life Technologies*), seguindo as instruções do fabricante.

3.10.4. Análise de Expressão Gênica – PCR em tempo real (qPCR)

A análise de expressão gênica do presente estudo foi realizada em triplicata por qPCR utilizando o aparelho 7500 Fast real PCR System (Applied Biosystems). Para comparação do grupo G1 nos momentos pré e pós intervenção dietética com o grupo controle, o programa computacional calculou a variação do ciclo de quantificação (Ct) do grupo intervenção em relação ao ciclo de quantificação (Ct) do grupo controle, expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$. Os números de expressão gênica representam quantas vezes cada gene foi expresso acima ou abaixo quando comparados com o grupo controle.

Para quantificar a expressão relativa dos genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* por meio da qPCR, foram utilizadas as sondas de hidrólise descritas no Quadro 4.

Quadro 4. Sondas de hidrólise para os genes avaliados no presente estudo.

Gene	Sonda
<i>ADRB3</i>	Hs00609046_m1
<i>UCP1</i>	Hs00222453_m1
<i>UCP2</i>	Hs01075227_m1
<i>UCP3</i>	Hs01106052_m1
<i>PLIN1</i>	Hs00160173_m1
<i>PPARG2</i>	Hs01115513_m1

TaqMan MGB 6-FAM fluorogênicas, seguindo instruções do fabricante.

3.10.5. Controle endógeno

Dois genes de referência (*GAPDH* e β -*actina*) (Quadro 5) foram utilizados com o objetivo de normalizar a expressão dos mRNAs dos genes analisados para diferenças na quantidade e qualidade de RNA, além da verificação de eficiência da reação de transcrição reversa entre as amostras. Esses genes são frequentemente utilizados em estudos para determinar o melhor normalizador para as amostras analisadas.

Os genes de referência foram amplificados e detectados por sonda TaqMan MGB 6-FAM fluorogênicas (Applied Biosystems), seguindo instruções do fabricante.

Quadro 5. Sondas de hidrólise para os genes de referência selecionados para o presente estudo.

Gene	Sonda
β - <i>actina</i>	Hs99999903_m1
<i>GAPDH</i>	Hs99999905_m1

3.11. Análise estatística

Após atestada a normalidade da distribuição dos dados pelo teste de *Shapiro-Wilk*, a estatística descritiva foi composta por valores de média e desvio-padrão (DP). Posteriormente foi realizado teste t para amostras pareadas para comparar antes e após intervenção e teste t para amostras independentes para comparação dos dois momentos de G1 com o grupo controle. Para verificar associações entre as variáveis quantitativas do estudo, foi utilizada a correlação de *Spearman*. Foi realizada a regressão linear múltipla para verificar a contribuição da expressão dos genes na oxidação de substratos, ajustando para o aporte calórico, de carboidrato e lipídio da dieta. A significância estatística (*p*-valor) foi estabelecida em valores inferiores a 5% ($p < 0,05$), sendo todas as análises realizadas no software *Statistical Package for Social Science* (SPSS versão 17.0 [Inc. Chicago. IL]).

Resultados

4. RESULTADOS

Participaram deste estudo 21 mulheres, sendo 11 com obesidade grau III, com média de idade de $35,5 \pm 6,8$ anos que participaram da intervenção dietética (dieta de 1200 kcal/dia) por período de 6 semanas e 10 mulheres eutróficas, com média de idade de $33,5 \pm 11,2$ anos, sem diferença significativa entre os dois grupos.

Na Tabela 1 estão descritas as informações de histórico familiar de sobrepeso/obesidade e presença de doença cardiovascular (DCV) e diagnóstico de diabetes mellitus (DM), hipertensão arterial sistêmica (HAS) e dislipidemia das participantes dos grupos G1 e G2. Ressalta-se que foram coletados dados de histórico familiar de sobrepeso/obesidade e DCV somente de 10 pacientes do G1, considerando que 1 participante não soube informar devido ao fato de não conhecer os pais biológicos. No grupo G1 notou-se maior prevalência de história familiar de sobrepeso/obesidade, DCV, DM, HAS e Dislipidemia (DLP), 90%, 30%, 18,2%, 72,7% e 9,1% respectivamente, quando comparado com o G2.

Tabela 1 - Histórico familiar de sobrepeso/obesidade, doença cardiovascular, diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemias das pacientes do grupo intervenção (G1) e eutróficas (G2).

	G1 (n=10)		G2 (n=10)	
	n	%	n	%
História familiar Sob/Ob	9	90	6	60
História familiar DCV	3	30	-	-
DM	2	18,2	-	-
HAS	8	72,7	1	-
DLP	1	9,1	-	10

Sob: sobrepeso; Ob: Obesidade; DCV: Doença Cardiovascular; DM: Diabetes Mellitus; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; DLP: Dislipidemia.

Na Tabela 2 estão apresentadas as análises do consumo alimentar do G1 antes e durante a intervenção e do G2. Observou-se menor ingestão energética, de carboidrato (gramas e % do VCT) e lipídios (gramas e % do VCT) do G1 pré e durante intervenção quando comparado ao G2. O grupo G2 apresentou menor ingestão de proteína (% do VCT), quando comparado com o G1 durante intervenção. Ao avaliar o consumo alimentar do grupo G1 antes e durante a intervenção dietética, observa-se um aumento significativo na porcentagem de ingestão de carboidrato e diminuição da ingestão de lipídio (gramas e % do VCT). Para as outras variáveis, não houve diferenças significantes entre os grupos e os dois momentos do grupo G1.

Tabela 2. Consumo alimentar de pacientes com obesidade grau III (G1) antes e durante intervenção dietética e mulheres eutróficas (G2).

	G1 pré intervenção (n=11)	G1 durante intervenção (n=11)	G2 (n=10)
Energia (kcal)	1249,3±136,7	1245,6±2,0	1784,4±584,7 ^{a,b}
Carboidrato (g)	149,5±57,9	178,7±0,2	232,3±83,4 ^a
Carboidrato (% do VCT)	48±5,1	57,4±0,1 ^a	51,9±4,3 ^{a,b}
Proteína (g)	60,9±30,7	61,5±0,2	69,3±19,9
Proteína (% do VCT)	19,3±5,4	19,7±0,1	16,0±2,4 ^b
Lipídio (g)	45,9±15,5	34,4±0,3 ^a	67,6±33,2 ^{a,b}
Lipídio (% do VCT)	33,5±3,6	24,8±0,1 ^a	33,5±9,7 ^{a,b}

kcal: quilocaloria; g: gramas; VCT: valor calórico total; a: $p < 0,05$ em relação ao G1 pré-intervenção; b: $p < 0,05$ em relação ao G1 durante intervenção.

Na Tabela 3 estão descritas as variáveis antropométricas, composição corporal, TMR e oxidação de substratos das participantes antes e após 6 semanas de intervenção dietética e das mulheres eutróficas. Houve diminuição significativa de peso, IMC, MCM (kg e %), MG (kg e %), VO_2 e TMR após intervenção dietética no G1. A perda de peso média foi de 8,4±4,3 kg, equivalente a 5,2±1,8% do peso inicial.

Houve diferença nos indicadores de peso, IMC, CA, MCM (kg e %), MG (kg e %), TMR e oxidação de lipídio, entre G2 e o G1, tanto no momento pré como no pós-intervenção dietética.

Tabela 3 - Antropometria, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos de pacientes com obesidade grau III antes e após intervenção dietética (G1) e eutróficas (G2).

	G1 pré-intervenção	G1 pós-intervenção	G2
	(n = 11)	(n = 11)	(n = 10)
Peso (kg)	155,0±31,4	146,5±27,8 ^a	56,8±7,7 ^{a,b}
Estatura (m)	1,62±0,06	1,62±0,06	1,61±0,07
IMC (kg/m²)	58,5±10,5	55,3±9,2 ^a	21,8±2,2 ^{a,b}
CA (cm)	146,8±18,8	145,2±17,7	78,5±8,6 ^{a,b}
MCM (kg)	65,4±8,6	63,1±7,1 ^a	39,4±6,3 ^{a,b}
MCM (%)	42,8±3,6	47,3±4,0 ^a	69,3±3,4 ^{a,b}
MG (kg)	89,5±23,0	83,4±21,0 ^a	17,4±2,5 ^{a,b}
MG (%)	57,1±3,6	56,3±4,0 ^a	30,7±3,4 ^{a,b}
VO₂ (l/min)	0,36±0,06	0,34±0,06 ^a	0,20±0,04 ^{a,b}
VCO₂ (l/min)	0,26±0,04	0,24±0,03	0,15±0,02 ^{a,b}
TMR (kcal/dia)	2511,6±386,1	2324,0±416,4 ^a	1427,5±257,4 ^{a,b}
QR	0,72±0,08	0,72±0,73	0,77±0,09
Ox de CHO (g/dia)	27,7±196,7	25,7±170,5	74,4±105,7
Ox de Lip (g/dia)	250,7±92,3	232,0±100,8	119,5±60,4 ^{a,b}
Ox Total (g/dia)	278,5±120,1	257,7±81,8	194,0±54,5

kg: quilograma; IMC: índice de massa corporal; m: metro; CA: circunferência abdominal; cm: centímetro; MCM: massa corporal magra; MG: massa gorda; VO₂: Volume de Oxigênio; VCO₂: volume de dióxido de carbono; TMR: taxa metabólica de repouso; kcal: quilocaloria; QR: quociente respiratório; Ox de CHO: oxidação de carboidrato; Ox de Lip: oxidação de lipídio; Ox Total: oxidação total; g: gramas; a: p<0,05 em relação ao G1 pré-intervenção; b: p<0,05 em relação ao G1 pós-intervenção.

Na Tabela 4 estão apresentados os valores de TMR absoluta e corrigidos por peso (TMR/peso) e massa corporal magra (TMR/MCM) das pacientes do grupo G1 e G2. Houve diminuição significativa na TMR absoluta do G1 após a intervenção dietética ($p=0,02$), porém isso não foi observado quando corrigido pelo peso corporal e por MCM. Ao compararmos os dois grupos, observamos que as mulheres com obesidade apresentaram maior TMR absoluta, porém, quando essa variável é ajustada por peso corporal, as mulheres eutróficas apresentam maiores valores.

Tabela 4. Taxa metabólica de repouso em termos absolutos e ajustados por peso e massa corporal magra do grupo G1 antes e após 6 semanas de intervenção dietética hipocalórica e do grupo G2.

	G1 pré-intervenção (n = 11)	G1 pós-intervenção (n = 11)	G2 (n = 10)
TMR abs (kcal)	2511,6±386,1	2324,0±416,4 ^a	1427,5±257,4 ^{a,b}
TMR/Peso (kcal/kg)	16,5±2,3	16,1±2,5	25,3±4,1 ^{a,b}
TMR/MCM (kcal/kg)	38,5±4,0	37,0±5,3	36,6±6,5

TMR: taxa metabólica de repouso; Abs: absoluta; kcal: quilocaloria; kg: quilograma; MCM: massa corporal magra; a: $p < 0,05$ quando comparado com o G1 pré-intervenção; b: $p < 0,05$ quando comparado com o G1 pós-intervenção.

Na Tabela 5 estão descritos os resultados dos indicadores bioquímicos das pacientes do grupo G1 antes e após intervenção dietética hipocalórica e das pacientes do grupo G2. Houve diminuição significativa do colesterol total, HDL-colesterol e LDL-colesterol após a intervenção dietética no G1. Quando comparado ao G2, observa-se diferença significativa do HDL-colesterol pós-intervenção e do triglicérides nos momentos pré e pós-intervenção do grupo G1.

Tabela 5 - Indicadores bioquímicos de pacientes com obesidade grau III (G1) antes e após intervenção dietética e de mulheres eutróficas (G2).

	G1 pré-intervenção (n = 11)	G1 pós-intervenção (n = 11)	G2 (n = 10)
Glicemia jejum (mg/dL)	95,7±20,6	85,7±11,6	85,7±9,8
Colesterol total (mg/dL)	180,3±38,4	152,6±23,3 ^a	160,2±36,0
HDL-colesterol (mg/dL)	39,6±7,6	31,8±5,4 ^a	47,2±8,6 ^b
LDL-colesterol (mg/dL)	115,1±32,0	95,6±23,4 ^a	99,7±31,2
Triglicérides (mg/dL)	145,0±58,3	126,3±47,6	66,1±23,0 ^{a,b}

mg: miligrama; dL: decilitro; a: $p < 0,05$ em relação ao G1 pré-intervenção; b: $p < 0,05$ em relação ao G1 pós-intervenção.

A expressão dos genes avaliados no estudo apresentaram alterações após a intervenção dietética hipocalórica por 6 semanas. As figuras de 6 a 11 mostram a expressão dos genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* antes e após intervenção dietética. Observou-se redução significativa da expressão do gene *UCP3*

após intervenção dietética ($\Delta = -1,18$; $p < 0,05$), entretanto, os genes *PLIN1* ($\Delta = -0,75$; $p = 0,075$) e *ADRB3* ($\Delta = -3,08$; $p = 0,050$) apresentaram uma tendência (t) a redução da expressão. Quando comparamos o grupo G1 nos dois momentos do estudo com o grupo G2, observa-se que os genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP2* e *PPARG2* estão mais expressos nos indivíduos com obesidade. Já os genes *UCP3* e *PLIN1* estão mais expressos no grupo G1 pré-intervenção e menos expresso nesse mesmo grupo pós-intervenção quando comparado com o grupo controle.

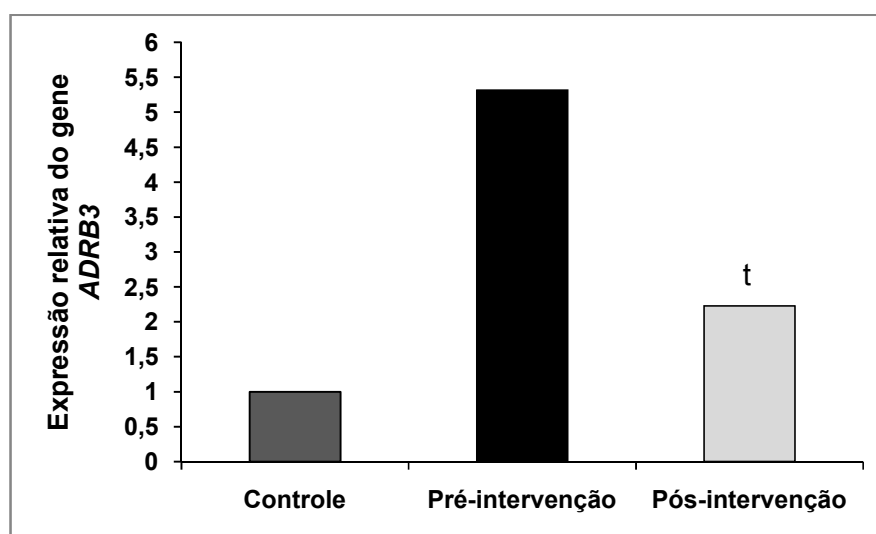


Figura 6. Expressão relativa do gene *ADRB3* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$. (t: $p = 0,050$).

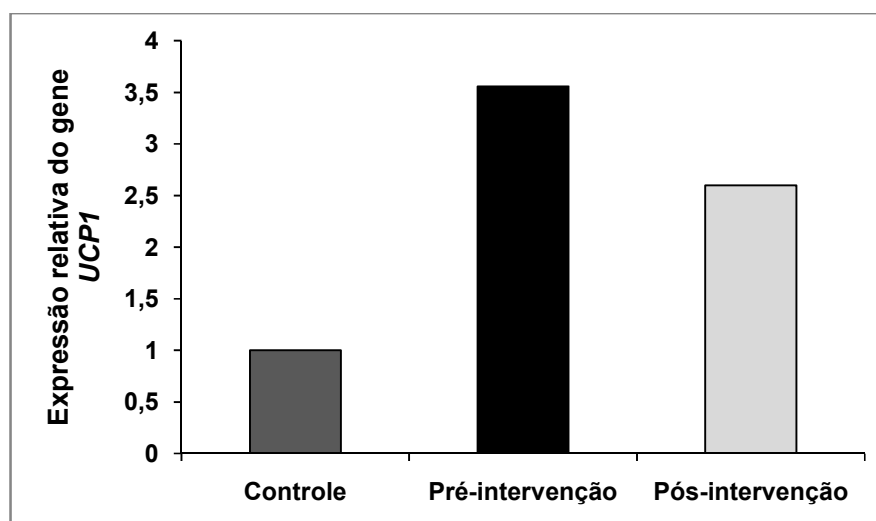


Figura 7. Expressão relativa do gene *UCP1* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

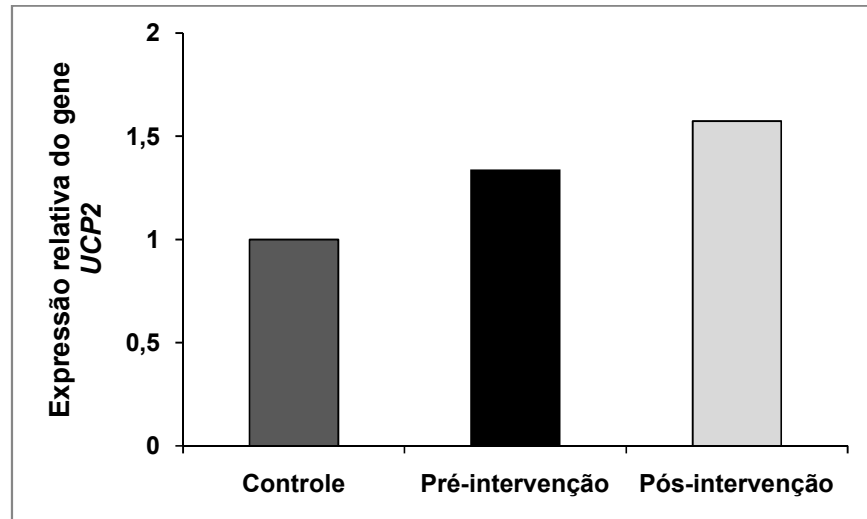


Figura 8. Expressão relativa do gene *UCP2* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

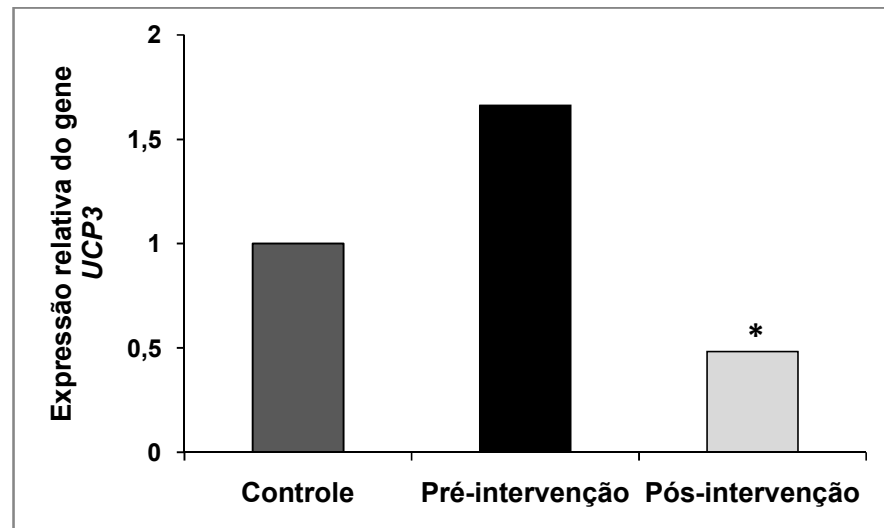


Figura 9. Expressão relativa do gene *UCP3* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$. (* $p < 0,05$).

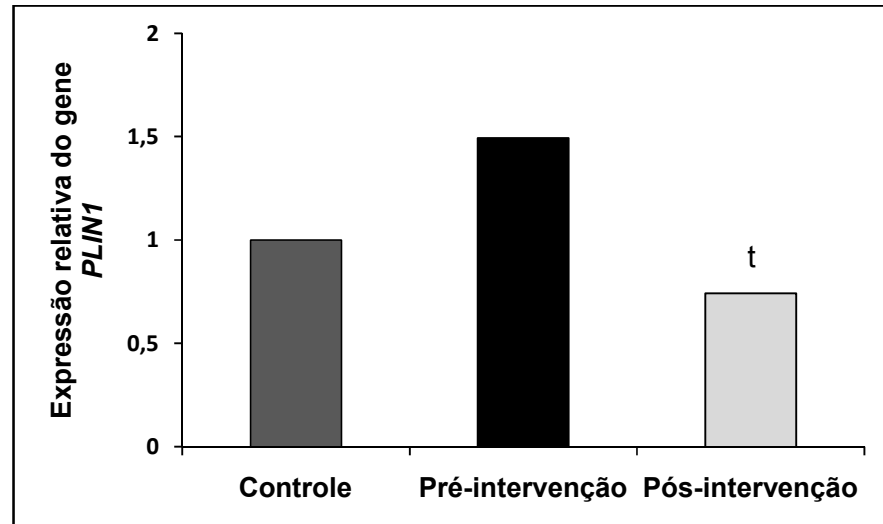


Figura 10. Expressão relativa do gene *PLIN1* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$. (t: $p=0,075$).

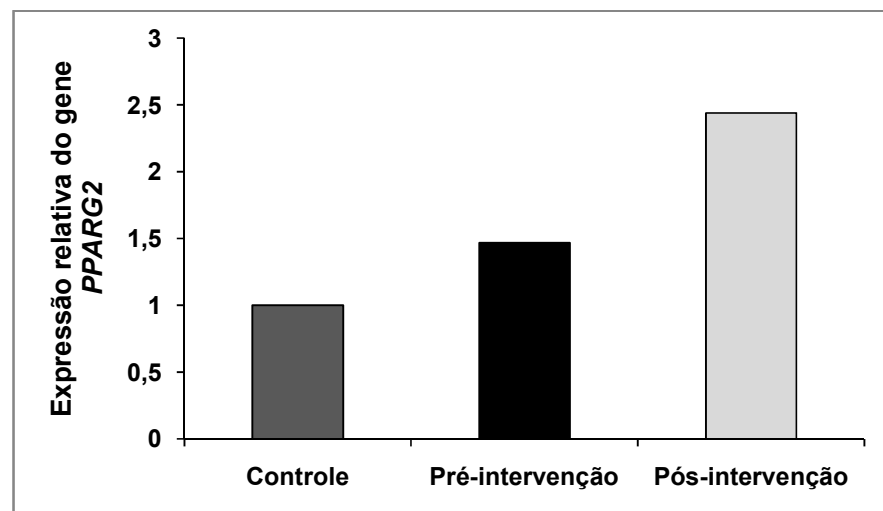


Figura 11. Expressão relativa do gene *PPARG2* em mulheres com obesidade grau III antes e após intervenção dietética. Dados expressos na base logarítmica $2^{\Delta\Delta Ct}$.

Ao realizarmos as correlações entre a expressão dos genes com os indicadores antropométricos, encontramos correlação positiva entre a expressão do gene *UCP2* com a perda de peso em quilogramas (kg) e porcentagem (%) (Figura 12).

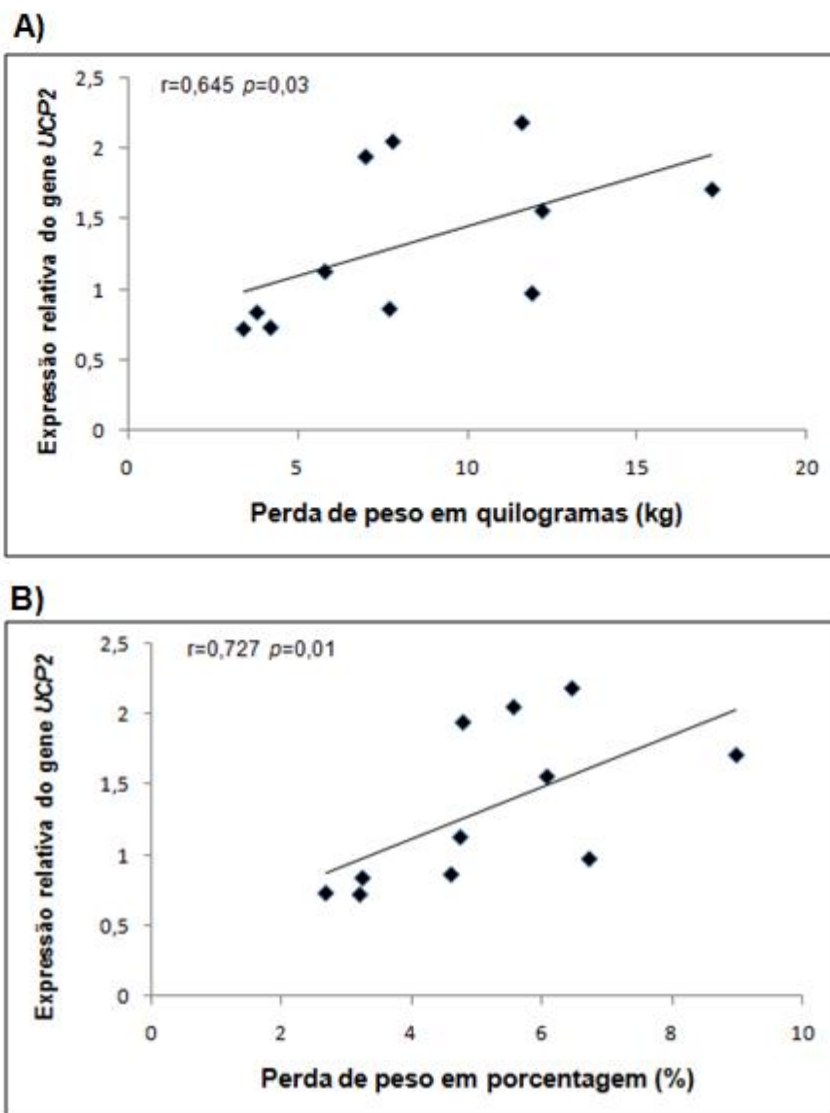


Figura 12. Correlação entre expressão do gene *UCP2* e perda de peso em quilogramas (A) e porcentagem (B) de pacientes com obesidade grau III.

As análises de regressão linear múltipla não evidenciaram contribuição da expressão dos referidos genes no momento pré-intervenção na perda de peso (%) (Tabela 6).

Tabela 6. Análise de regressão linear múltipla mostrando a contribuição da expressão dos genes avaliados na porcentagem de perda de peso.

Genes	Pré-intervenção				Variação da expressão gênica			
	β	r^2	p	IC 95%	β	r^2	p	IC 95%
ADRB3	-0,295	0,087	0,38	(-0,231; 0,09)	0,241	0,058	0,48	(-0,167; 0,33)
UCP1	-0,015	0,000	0,97	(-0,206; 0,19)	-0,255	0,065	0,45	(-0,998; 0,48)
UCP2	0,600	0,360	0,05	(-0,010; 3,90)	-0,214	0,046	0,53	(-0,974; 0,53)
UCP3	-0,300	0,090	0,37	(-1,301; 0,53)	0,279	0,078	0,41	(-0,642; 1,44)
PLIN1	-0,192	0,037	0,57	(-1,137; 0,66)	0,129	0,017	0,71	(-0,755; 1,06)
PPARG2	-0,268	0,072	0,43	(-1,862; 0,85)	0,010	0,000	0,98	(-0,347; 0,35)

r^2 : coeficiente de determinação, IC: intervalo de confiança, $p < 0,05$.

Ao analisar a expressão dos genes e a oxidação de substratos, verificou-se correlação positiva dos genes *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* com oxidação de carboidrato antes da intervenção dietética e dos genes *UCP3* e *PLIN1* após 6 semanas de intervenção. Houve correlação negativa entre a expressão dos genes *PLIN1* e *PPARG2* e a oxidação de lipídios antes da intervenção dietética e correlação negativa com a expressão do gene *PLIN1* após 6 semanas de dieta hipocalórica. As correlações entre os genes *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* estão evidenciadas nas figuras 13 a 20.

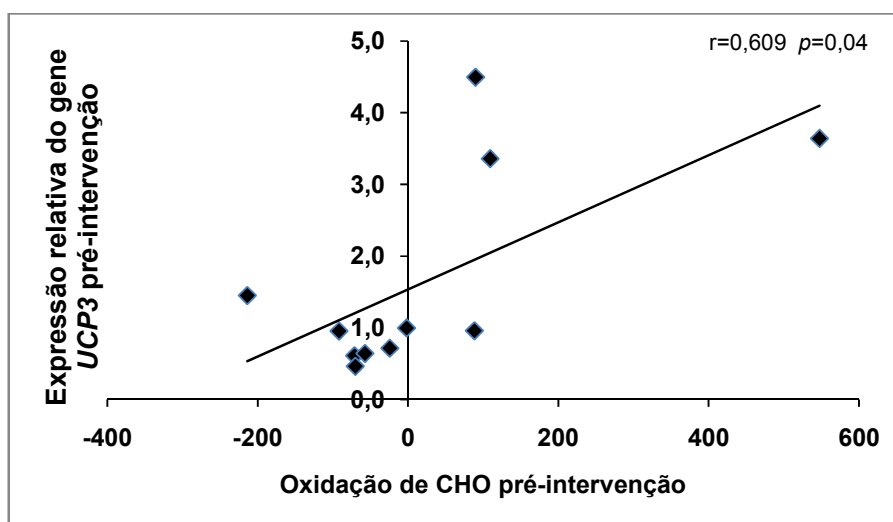


Figura 13. Correlação entre expressão do gene *UCP3* e oxidação de carboidrato (CHO) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

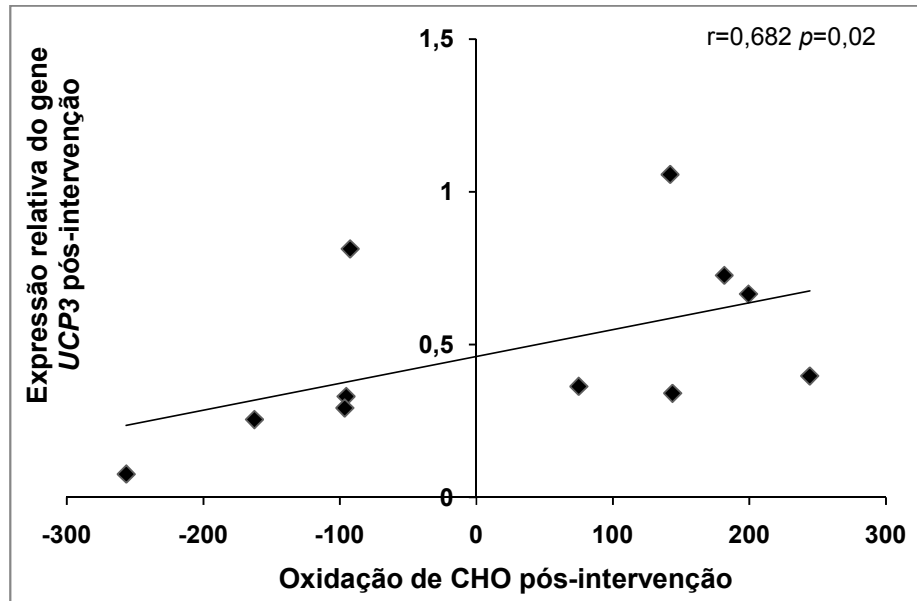


Figura 14. Correlação entre expressão do gene *UCP3* e oxidação de carboidrato (CHO) pós-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

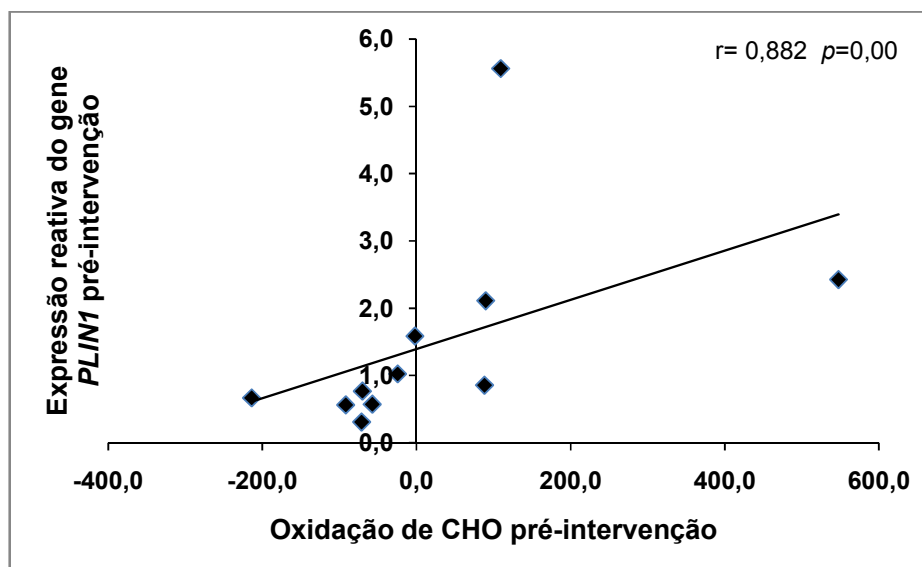


Figura 15. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de carboidrato (CHO) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

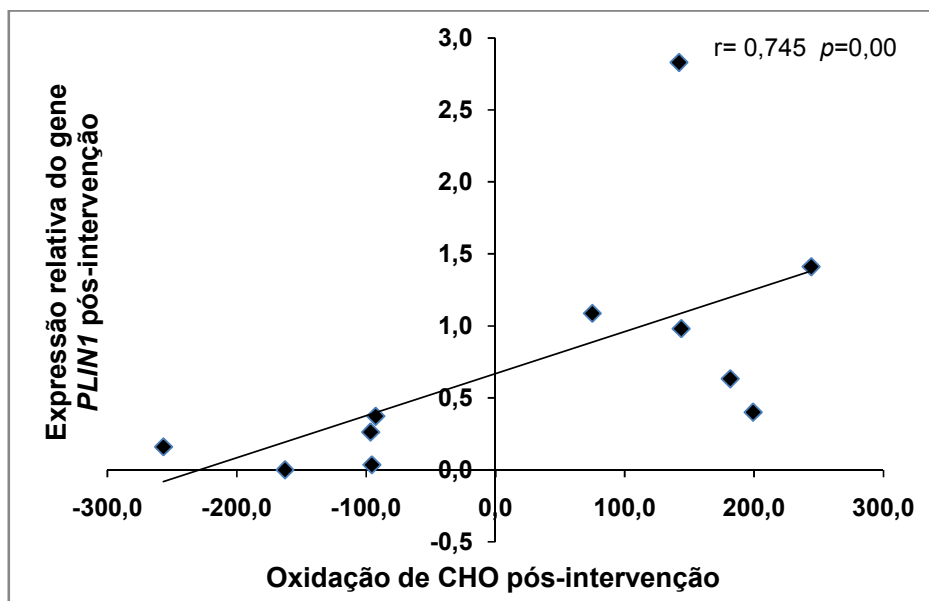


Figura 16. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de carboidrato (CHO) pós-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

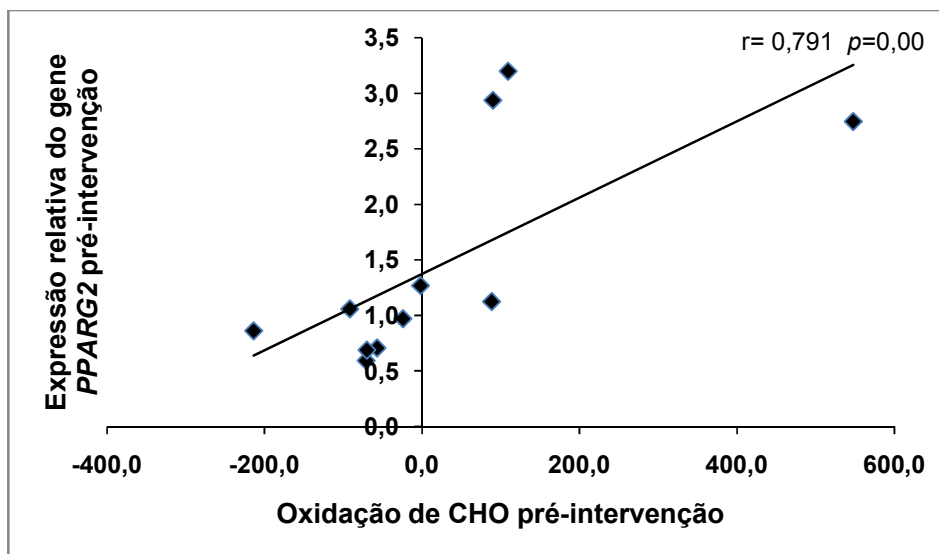


Figura 17. Correlação entre expressão do gene *PPARG2* e oxidação de carboidrato (CHO) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

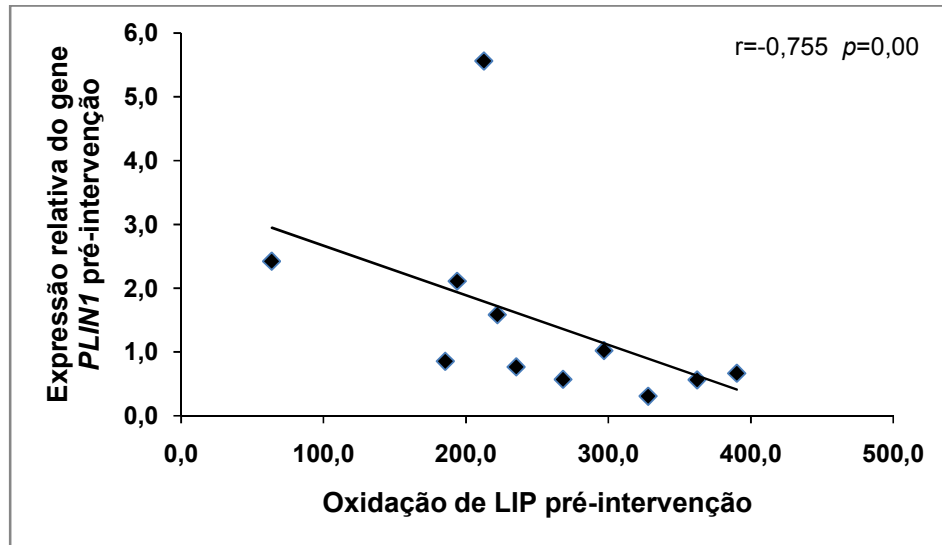


Figura 18. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de lipídio (LIP) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

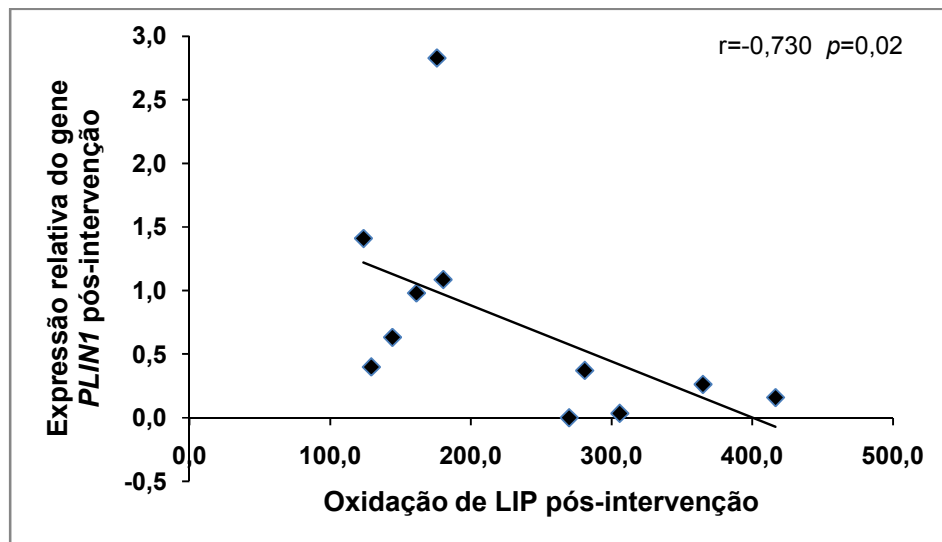


Figura 19. Correlação entre expressão do gene *PLIN1* e oxidação de lipídio (LIP) pós-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

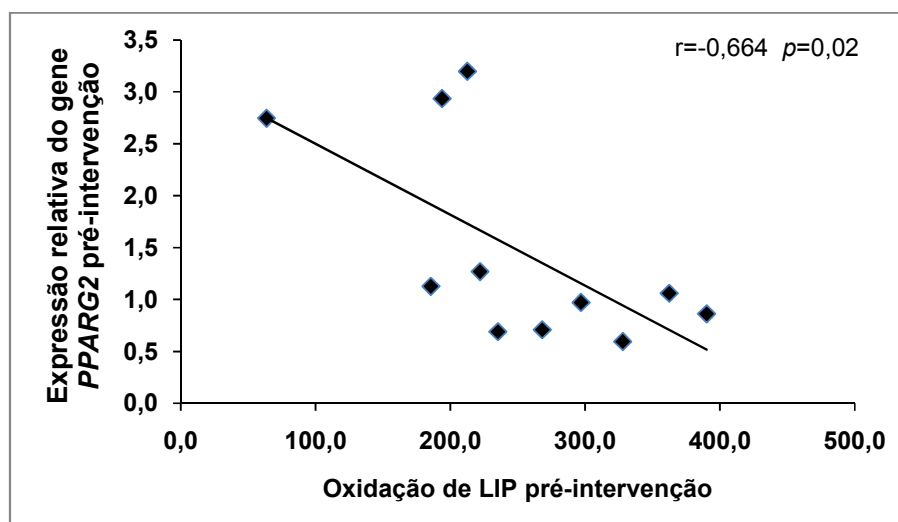


Figura 20. Correlação entre expressão do gene *PPARG2* e oxidação de lipídio (LIP) pré-intervenção de pacientes com obesidade grau III.

A análise de regressão linear múltipla evidenciou contribuição da expressão dos genes *UCP3* e *PPARG2* no momento pré-intervenção na oxidação de carboidrato (Tabela 7).

Tabela 7. Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão dos genes *UCP3* e *PPARG2* na oxidação de carboidrato.

Genes	β	r^2	p	IC 95%
<i>UCP3</i>				
Modelo 1	0,639	0,400	0,034	(8,057; 166,35)
Modelo 2	0,683	0,475	0,030	(11,461; 174,90)
Modelo 3	0,659	0,481	0,032	(9,639; 170,32)
Modelo 4	0,649	0,465	0,037	(7,111; 169,95)
<i>PPARG2</i>				
Modelo 1	0,688	0,473	0,019	(28,014; 247,11)
Modelo 2	0,754	0,565	0,013	(40,686; 261,06)
Modelo 3	0,725	0,567	0,015	(36,839; 253,15)
Modelo 4	0,696	0,529	0,021	(27,130; 251,26)

r^2 : coeficiente de determinação, IC: intervalo de confiança, Modelo 1: regressão linear, Modelo 2: regressão linear ajustada pelo aporte calórico da dieta (kcal/dia), Modelo 3: regressão linear ajustada pelo aporte de carboidrato da dieta (g/dia), Modelo 4: regressão linear ajustada pelo aporte de lipídios da dieta (g/dia), $p < 0,05$.

A Tabela 8 mostra a análise de regressão linear múltipla evidenciando a contribuição do gene *PPARG2* no momento pré-intervenção na oxidação de lipídios.

Tabela 8. Regressão linear múltipla da contribuição independente da expressão do gene *PPARG2* na oxidação de lipídio.

Gene	β	r^2	p	IC 95%
<i>PPARG2</i>				
Modelo 1	-0,641	0,411	0,033	(-114,56; -5,89)
Modelo 2	-0,719	0,536	0,019	(-120,89; -14,15)
Modelo 3	-0,688	0,558	0,020	(-115,84; -13,34)
Modelo 4	-0,650	0,467	0,036	(-116,91; -5,08)

r^2 : coeficiente de determinação, IC: intervalo de confiança, Modelo 1: regressão linear sem ajuste, Modelo 2: regressão linear ajustada pelo aporte calórico da dieta (kcal/dia), Modelo 3: regressão linear ajustada pelo aporte de carboidrato da dieta (g/dia), Modelo 4: regressão linear ajustada pelo aporte de lipídios da dieta (g/dia), $p < 0,05$.

Discussão

5. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que a intervenção dietética hipocalórica por 6 semanas proporcionou redução significativa das variáveis antropométricas de peso, IMC, MCM, MG e TMR. Além disso, verificou-se que a restrição energética influenciou na expressão de genes envolvidos no metabolismo energético e de lipídios.

O padrão alimentar da população é responsável pela alta incidência de obesidade em todo o mundo, sendo a ingestão de alimentos altamente calóricos associada ao sedentarismo os principais responsáveis por essa epidemia (PEARCE & CASTRO, 2002; YUNSHENG et al., 2003; NONINO et al., 2007). Somada a crescente prevalência de obesidade mundial, observa-se também um aumento significativo do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (PI-SUNYER, 2009; HAIDAR & COSMAN, 2011).

Neste estudo, o consumo alimentar habitual de mulheres com obesidade (G1) evidenciou, quando comparado ao grupo controle, menor ingestão energética ($p=0,029$) e de carboidrato ($p=0,015$). Esses dados contradizem os indicadores antropométricos destas pacientes e a explicação para tal pode ser o sub-relato alimentar por parte das pacientes nos recordatórios alimentares de 24 horas. Nonino et al. (2007) mostraram que ao oferecer um esquema alimentar de 2500 kcal/dia para as pacientes que participaram de um programa de perda de peso, houve perda ponderal mesmo com relato alimentar fora do ambiente hospitalar de 2110 kcal/dia. Scagliusi & Lancha-Júnior (2003) concluíram que esse sub-relato é um fenômeno complexo que envolve fatores morais, emocionais, sociais, físicos e cognitivos. Entretanto, mesmo com a existência desse viés na coleta de dados sobre consumo alimentar, a intervenção dietética com restrição de calorias é ainda a estratégia mais utilizada para a perda ponderal, considerando o fato de ser um método saudável e não invasivo comparado com outras técnicas (ROTELLA & DICEMBRINI, 2015; FOSTER-SCHUBERT et al., 2012; JAIME et al., 2015).

Neste estudo a intervenção dietética hipocalórica de 1200 kcal/dia por 6 semanas mostrou ser eficiente na perda de peso e diminuição do IMC e da gordura corporal de pacientes com obesidade grau III. Assim como nosso estudo, Cowburn et al. (1997), mostraram que uma intervenção com dieta hipocalórica foi suficiente para proporcionar perda de peso, com melhora nas variáveis antropométricas e de

composição corporal de indivíduos com obesidade. Além disso, estudo realizado no Reino Unido avaliando um programa para perda de peso chamado SLiM (*Specialist Lifestyle Management*), verificou que uma intervenção baseada na educação nutricional e incentivo à mudanças de estilo de vida foi suficiente para proporcionar perda de peso clinicamente significativa (BROWN et al., 2015). Wadden et al. (2007) também mostraram que a realização de uma abordagem abrangente de modificação de estilo de vida é eficaz na indução e manutenção da perda de aproximadamente 10% do peso inicial com melhora das complicações de saúde associadas à obesidade, incluindo diabetes tipo 2 e hipertensão arterial.

Pode-se observar a partir dos resultados do presente estudo que apesar da significativa redução das variáveis de peso, IMC, MCM e MG das participantes com obesidade submetidas a 6 semanas de intervenção dietética hipocalórica, esses indicadores mantiveram-se diferentes do grupo controle. Além disso, não foi observado neste estudo redução significativa da CA após a intervenção dietética, sendo que os valores encontram-se muito acima do preconizado pela OMS (OMS, 2004).

A obesidade abdominal é considerada um fator de risco independente para desenvolvimento de doenças endócrinas, metabólicas e cardiovasculares, mesmo quando os indivíduos apresentam IMC dentro dos valores de normalidade (VELOSO & SILVA, 2010). A medida da circunferência abdominal tem sido amplamente utilizada na prática clínica considerada como critério diagnóstico para a síndrome metabólica (MELLER et al., 2014). Dados dos estudos de coorte prospectivos longitudinais NHANES I e NHANES II mostraram uma relação positiva entre aumento da massa gorda e todas as causas de mortalidade, além de uma correlação negativa entre massa corporal magra e mortalidade, sendo este último um fator considerado de proteção para o indivíduo (ALLISON et al., 2002).

Ao analisarmos a composição corporal de mulheres com obesidade submetidas à dieta hipocalórica, observamos que além da perda de peso e redução de MG, houve também a redução da MCM. Verificamos modificações importantes na composição corporal, com redução média de 2,1 kg de MCM e de 6,1 kg de MG.

Alguns estudos relatam que até 25% da perda de peso obtida por meio de dieta com restrição energética de curto prazo é referente à diminuição da massa corporal magra (NICKLAS et al., 2009; FOSTER-SCHUBERT et al., 2012). A

redução dos parâmetros de composição corporal é consequência comum na perda de peso com dietas hipocalóricas. Estudo realizado por Thomson et al. (2008) mostrou perda de peso média de 6,9 kg em 10 semanas de intervenção dietética, com redução de 2,9 kg de MG e 3,5 kg de MCM. Jaime et al. (2015) também mostraram alterações da composição corporal em pacientes submetidas a 3 meses de dieta hipocalórica, com redução de 3,9 kg, sendo 2,7 kg de MG e 0,3 de MCM.

Após a intervenção dietética, observamos redução na TMR absoluta ($2511,6 \pm 386,1$ kcal/dia para $2324,0 \pm 416,4$ kcal/dia, $p=0,026$). Sabe-se que a TMR é proporcional a massa corporal, principalmente a MCM (HILL et al., 2012). Além disso, a MCM é responsável por 60 a 80% de variação da TMR, enquanto a massa gorda corresponde de 5 a 7% dessa variação (MENOZZI et al., 2000; DULLOO et al., 2012). Com isso, as alterações na composição corporal das pacientes do presente estudo justificariam a diminuição do gasto energético de repouso. As pacientes avaliadas também apresentam TMR absoluta maior quando comparadas às mulheres eutróficas, o que pode ser explicado pela maior massa corporal do primeiro grupo, sendo assim necessário maior gasto energético para manter as principais funções corporais desses indivíduos (FARIA et al., 2012). Ao analisarmos a TMR ajustada pelo peso, não encontramos diferença nesta variável antes e após a intervenção dietética. Quando comparamos as pacientes com obesidade com o grupo controle, observamos que estas apresentam maior TMR ajustada pelo peso nos dois momentos do estudo. Assim como no presente estudo, Jaime et al. (2012) também não encontraram redução no valor de TMR ajustada pelo peso após restrição calórica por 3 meses. Diferente dos nossos achados, Bosy-Westphal et al. (2013) verificaram redução da TMR ajustada pelo peso após dieta hipocalórica por 6 meses e Martin et al. (2007) encontraram redução da TMR, quando ajustada pela MCM.

Analisando as variáveis respiratórias, encontramos neste estudo diferença do VO_2 e VCO_2 entre os grupos G1 e G2, porém, o quociente respiratório (QR), que corresponde a razão entre essas duas variáveis, utilizado para identificar o substrato energético (lipídio, proteína ou glicose) oxidado no momento da avaliação não variou após a intervenção dietética. De acordo com a literatura, quanto mais próximo o valor de QR estiver de 0,70, como o verificado no nosso estudo, maior é a oxidação de lipídios (DIAS et al., 2009). Estudo analisando o quociente respiratório em

indivíduos com obesidade mostrou que menores valores dessa variável são atribuídos ao aumento da oxidação de gordura, sendo justificado por um mecanismo compensatório do corpo para restaurar o equilíbrio de gordura corporal (FARIA, et al., 2014).

A análise dos indicadores bioquímicos do presente estudo mostrou que as pacientes do grupo G1 apresentaram redução das concentrações séricas de colesterol total (CT), LDL colesterol e triglicérides (TG) após 6 semanas de intervenção dietética. Quando comparadas ao grupo controle, as pacientes com obesidade no momento pós-intervenção apresentaram valores significativamente menores de HDL colesterol. Já com relação ao triglicérides, o grupo G1 apresentou valores significativamente mais elevados quando comparado ao G2. De acordo com estudos prévios, essa redução é de extrema importância para a diminuição do risco para doenças cardio-metabólicas (OUYANG et al., 2015). De encontro com nossos achados, Jaime et al. (2015), estudando mulheres com obesidade submetidas a restrição calórica por três meses observaram redução das concentrações séricas de triglicérides. Além disso, outros estudos também mostram reduções das concentrações de lipídios após intervenção dietética hipocalórica (VALLE et al., 2010; NIEMAN et al., 2002), evidenciando a restrição energética como uma estratégia eficaz no tratamento de dislipidemia (WOOD et al., 2006; VALLE et al., 2010).

Ao analisar a glicemia, não foi encontrado diferença nas concentrações plasmáticas entre os grupos do estudo e após intervenção dietética no grupo G1, porém, sabe-se que a perda de peso é importante no controle glicêmico em indivíduos com obesidade (KNOWLER, et al., 2002; GAAL & SCHEEN, 2015).

Neste estudo, ao analisarmos a expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e de lipídios antes e após intervenção dietética, não encontramos diferenças significantes na expressão dos genes *UCP1*, *UCP2* e *PPARG2*, porém, houve uma redução significativa na expressão do gene *UCP3* e uma tendência à redução da expressão dos genes *ADRB3* e *PLIN1*.

Não existem ainda estudos semelhantes ao nosso na literatura avaliando a expressão destes genes em tecido adiposo subcutâneo antes e após intervenção dietética hipocalórica e suas influências na perda de peso, TMR e oxidação de substratos.

Encontramos neste estudo uma tendência na redução da expressão do gene *ADRB3* ($5,31 \pm 8,08$ para $2,23 \pm 3,61$ ($p=0,05$)) após intervenção dietética hipocalórica. Sabe-se que esse gene é responsável por estimular a mobilização de lipídios por meio da lipólise no TAB, ocasionando uma menor retenção de gordura nos adipócitos, contribuindo para a perda de peso (MASUO & LAMBERT, 2011), assim a resposta desse gene em nosso estudo pode indicar uma adaptação do organismo no processo de perda de peso. Ainda, foi observado que indivíduos com obesidade apresentaram maior expressão do respectivo gene nos dois momentos do estudo, quando comparado com grupo controle.

Alguns estudos avaliaram a presença de polimorfismos no gene *ADRB3* e suas relações com a obesidade, síndrome metabólica e hipertensão arterial, porém, os resultados descritos ainda são contraditórios. Luis et al. (2008) verificaram associação entre aumento de peso e maiores valores de IMC de indivíduos portadores do polimorfismo no gene Trp64 *ADRB3* quando comparados com indivíduos sem essa alteração genética. Já Rawson et al. (2002) não encontraram nenhuma diferença entre o IMC e indivíduos portadores da mesma modificação. Mirrakhimov et al. (2011) também encontraram associação entre obesidade, circunferência abdominal e redução dos níveis de HDL com o mesmo polimorfismo do gene *ADRB3*. No estudo de Saliba et al. (2014), 109 mulheres brasileiras com obesidade foram avaliadas antes e após intervenção dietética por sete semanas e não foram encontradas diferenças na perda de peso entre as mulheres portadoras e não portadoras do polimorfismo no gene Trp64 *ADRB3*.

A *UCP1* é uma proteína transportadora de ânions presente na mitocôndria e apresenta papel importante na função de termogênese. No presente estudo verificou-se uma redução da expressão desse gene após a intervenção dietética, mas sem diferença significativa ($p=0,131$). Apesar dos mecanismos de atuação dessa proteína não serem totalmente conhecidos, sua ação termogênica no TAM já é descrita em alguns estudos (BUSIELLO et al., 2015; KNUDSEN et al., 2014; LIU et al., 2013). Por meio de sua atuação na produção de energia sob forma de calor na membrana interna mitocondrial, essa proteína possui um papel significativo no combate a obesidade (KLAUS et al., 2012; DEPIERI et al., 2004). Sabe-se que o gene *UCP1* é mais expresso no TAM sob condições basais (sem presença de estímulos), enquanto no TAB a expressão é decorrente de uma resposta de

ativadores, tais como os beta adrenérgicos e os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PETROVIC et al., 2010; WU et al., 2013; CARRIÈRE et al., 2014). Entretanto, os adipócitos dos dois tecidos descritos apresentam níveis comparáveis de *UCP1* que, sob estimulação, podem atuar com a mesma capacidade termogênica (WU et al., 2012). Com isso, a diminuição da expressão da *UCP1* está associada com a maior suscetibilidade de desenvolvimento da obesidade, além de maior risco de desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2, como descrito no estudo de Brondani et al. (2012). Ainda, foi observado neste estudo que indivíduos com obesidade apresentaram maior expressão do respectivo gene nos dois momentos do estudo quando comparados aos indivíduos eutróficos.

Neste estudo também foi verificado aumento na expressão do gene *UCP2* após a intervenção dietética, mas sem diferença significativa ($p=0,859$). O gene *UCP2* está envolvido na regulação de mecanismos de homeostase corporal, dentre eles a ingestão alimentar, gasto energético, homeostase da glicose e comportamentos de recompensa (TODA & DIANO, 2014). No estudo realizado por Millet et al. (1997), foi verificado aumento da expressão do gene *UCP2* em indivíduos magros e com obesidade que foram submetidos a uma restrição de, aproximadamente, 250 kcal em relação a uma dieta normocalórica. Já Oberkofler et al. (1998) verificaram redução significativa da expressão da *UCP2* no tecido adiposo de obesos quando comparado com indivíduos magros. Ao avaliar a expressão do gene *UCP2* em tecido adiposo subcutâneo e omental em 69 indivíduos, Mahadik et al. (2012) observaram que a expressão desse gene é reduzida nos pacientes com obesidade e diabéticos, quando comparados com o grupo controle (não obesos). Além disso, no mesmo estudo foi verificada uma redução da expressão do mesmo gene no tecido omental, quando comparado com o tecido adiposo subcutâneo. Contrariando esses achados, nossos dados mostraram que indivíduos com obesidade apresentaram maior expressão do respectivo gene nos dois momentos do estudo quando comparados aos indivíduos eutróficos.

Ainda, observamos neste estudo redução significativa ($p=0,00$) na expressão do gene *UCP3* após a intervenção dietética hipocalórica por 6 semanas. Assim como nossos resultados, Pedersen et al. (2000) verificaram redução da expressão da *UCP3* após quatro semanas de dieta hipocalórica em mulheres com obesidade. Dulloo et al. (2001) verificaram uma associação da *UCP3* na regulação do fluxo de

substratos lipídicos, ou seja, de acordo com as concentrações plasmáticas de ácidos graxos livres (AGL) ocorre variação na oxidação lipídica e, conseqüentemente, alterações na expressão deste gene. Diferente desses achados, Bracale et al. (2014) não verificaram alterações na expressão do gene *UCP3* no músculo esquelético em mulheres com obesidade grave recebendo dieta com restrição calórica por quatro semanas.

Foi observado no presente estudo que indivíduos com obesidade apresentaram maior expressão de *UCP3* no momento pré-intervenção e menor expressão no momento pós-intervenção quando comparados com indivíduos eutróficos.

Sabe-se que as *UCPs* apresentam papel importante na termogênese, TMR, oxidação de substratos, regulação do metabolismo lipídico e, conseqüentemente, controle do peso corporal (DEPIERI et al., 2004; BRONDANI et al., 2014). Com isso, essas proteínas têm sido alvos de vários estudos que buscam estratégias de tratamentos de doenças que resultam do desequilíbrio energético (SAMEC et al., 2002; BUSIELLO et al., 2015).

Pesquisas associando polimorfismos das *UCPs* e obesidade têm sido realizadas, buscando entender a ação desses genes na alteração do peso corporal. Um estudo realizado por Maestrini et al. (2003) comparando indivíduos com obesidade grave e eutróficos verificou que não houve associação significativa entre dois polimorfismos da *UCP2* com parâmetros antropométricos e metabólicos. Phulukdarre, et al. (2013) também não encontraram associação de polimorfismos na *UCP2* e *UCP3* com o risco de doença arterial coronariana (DAC). Já Brondani et al. (2014) verificaram que o polimorfismo no gene *UCP3* está relacionado com proteção contra o desenvolvimento da obesidade na população européia, mas não em indivíduos com diabetes mellitus tipo 2.

Kovacs et al. (2005) investigaram os efeitos da alteração genética da *UCP2* na etiologia da obesidade e diabetes mellitus tipo 2 em índios Pima e verificaram que houve uma influência no metabolismo energético desses indivíduos, porém, sem contribuição de forma significativa no desenvolvimento dessas doenças.

Os resultados dos vários estudos comprovando a influência das *UCPs* no metabolismo energético e controle do peso corporal tem levado ao surgimento de intervenções nutricionais personalizadas e melhores abordagens farmacológicas,

objetivando resultados mais eficazes no tratamento da obesidade (DEPIERI, et al., 2004; BUSIELLO et al., 2015).

A perilipina 1 é uma proteína responsável pela regulação celular de depósito e mobilização de triglicerídeos (TAI & ORDOVAS, 2007), facilitando a formação e armazenamento de lipídios em gotas, além de proporcionar o aumento da lipólise por estimulação de catecolaminas (DERAM et al., 2008). No presente estudo verificou-se uma redução da expressão do gene *PLIN1* após a intervenção dietética. Mottagui-Tabar et al. (2003) verificaram que a expressão reduzida de *PLIN1* nos adipócitos foi associada a altas taxas de lipólise basal induzida por noradrenalina em mulheres com obesidade. Ray et al. (2009) verificaram reduzida expressão do gene *PLIN1* obtido em tecido adiposo subcutâneo abdominal e omental de indivíduos com obesidade, ao contrário de Kern et al. (2004) que verificaram maior expressão desse gene em indivíduos obesos. Neste estudo foi observado que indivíduos com obesidade apresentaram maior expressão do respectivo gene no momento pré-intervenção e menor expressão no momento pós-intervenção quando comparado com o grupo controle.

O polimorfismo do gene *PLIN* também tem sido estudado e associado com fenótipos de obesidade em mulheres brancas e indianas, mas não em mulheres chinesas (QI et al., 2004). Além disso, um polimorfismo no gene em questão foi associado com resistência à perda de peso em população obesa (CORELLA et al., 2005). Soenen et al. (2009) analisaram outro polimorfismo do gene *PLIN1* em mulheres obesas sob intervenção dietética por 6 semanas e verificaram maior risco de desenvolvimento de obesidade nesses indivíduos. Ao avaliar a associação de dois polimorfismos no gene em questão com a composição corporal, TMR e oxidação de substratos energéticos, Ruiz et al. (2011) verificaram que mulheres que apresentavam essas alterações genéticas apresentavam menor redução da CA e oxidação lipídica.

O *PPARG2* é um gene envolvido com a diferenciação de adipócitos, estoque de lipídios e sensibilidade à insulina (SPIEGELMAN et al., 1998; VIDAL-PUIG et al., 1997), além de ser fortemente associado com o desenvolvimento da obesidade (MARTI et al., 2008; LUAN et al., 2001; OCHOA et al., 2008). No presente estudo houve redução da expressão do gene *PPARG2* após intervenção dietética hipocalórica, porém, sem diferença significativa ($p=0,790$). Ao avaliar a expressão do

referido gene no tecido adiposo em humanos com obesidade e eutróficos, Vidal-Puig et al. (1997) verificaram que o mesmo apresenta maior expressão, além de associação positiva com o IMC. Ainda nesse estudo, foi verificado que a oferta de uma dieta restrita em calorias diminui a expressão do *PPARG2*. Concordando com esses achados, nossos dados mostraram que indivíduos com obesidade apresentaram maior expressão do respectivo gene nos momentos pré e pós-intervenção quando comparado com o grupo controle.

Alguns estudos também mostram uma associação entre alterações no gene em questão com diminuição de sua expressão e, conseqüentemente, influência nos níveis plasmáticos de lipídios em indivíduos com obesidade (SWARBRICK et al., 2001). Uma meta-análise mostrou que o polimorfismo do *PPARG2* está associado com o risco de desenvolvimento de obesidade em populações caucasianas, asiáticas e miscigenadas (YAO, et al., 2015). Outra meta-análise realizada com 19136 indivíduos, investigando a associação do polimorfismo no mesmo gene com o IMC encontrou resultados positivos (MARTI & MARTINEZ, 2006).

Ao avaliar a correlação da perda de peso com a expressão dos genes estudados, verificamos no presente estudo correlação positiva entre estes indicadores e a expressão do gene *UCP2*. Sabe-se que esse gene está envolvido com a regulação da ingestão alimentar, gasto energético e homeostase da glicose por meio da morfologia mitocondrial, portanto, confirmando sua atuação no processo de perda de peso (TODA & DIANO, 2014).

Já na análise da correlação entre a expressão dos genes com a oxidação de substratos antes e após intervenção dietética, encontramos resultados positivos entre a expressão dos genes *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* e oxidação de carboidrato e negativos entre a expressão dos genes *PLIN1* e *PPARG2* e a oxidação de lipídios. Ainda são escassos na literatura estudos que avaliam a associação entre expressão dos referidos genes em tecido adiposo subcutâneo com a oxidação de substratos, porém, segundo dados de Boschini & Garcia-Júnior (2005), uma dieta hipocalórica e perda de peso proporcionam redução da TMR e, conseqüentemente diminuição da taxa de lipólise. Com isso, ocorre menor utilização dos AGL, levando a menor expressão da *UCP3*, justificando a correlação positiva existente entre a expressão do presente gene com a oxidação de carboidrato no nosso estudo. Em uma pesquisa com pacientes submetidos ao jejum, Dulloo & Samec (2001) verificaram

diminuição da expressão da *UCP3* em TAM e diminuição da oxidação de lipídios. Ao mesmo tempo, verificaram aumento da expressão do mesmo gene no músculo esquelético com aumento da oxidação de gordura, sendo uma forma de resposta adaptativa de termogênese, em que o lipídio passa a ser a principal fonte de combustível, permitindo a preservação da glicose para a utilização de órgãos e/ou tecidos que necessitam exclusivamente desse nutriente como substrato energético.

Encontramos em nosso estudo correlação positiva do gene *PLIN1* com oxidação de carboidrato e negativa com oxidação de lipídios. O gene em questão apresenta papel chave no armazenamento de lipídios nos adipócitos, porém, sob estímulo de catecolaminas, esse gene atua no aumento da lipólise nesse tecido (DERAM, et al., 2008). Ray et al., (2009) avaliaram a expressão do *PLIN1* na região abdominal em tecido adiposo subcutâneo e omental de mulheres com obesidade e eutróficas e verificaram menor expressão desse gene e aumento do tamanho dos adipócitos nos indivíduos do primeiro grupo.

O *PPARG2* é um gene diretamente relacionado com a diferenciação dos adipócitos, além do armazenamento de lipídios e sensibilidade à insulina (RAZQUIN et al., 2011). A correlação positiva desse gene com a oxidação de carboidrato e negativa com a oxidação de lipídios no nosso estudo condiz com outras pesquisas presentes na literatura, comprovando a ação do gene em questão no metabolismo de macronutrientes (GRYGIEL-GÓRNIAK, 2014; JANANI & KUMARI, 2015,). Vidal-Piug et al. (1997), verificaram diminuição da expressão do gene *PPARG2* após dieta com baixo teor calórico e perda de peso em indivíduos com obesidade, sendo explicado pela diminuição dos níveis séricos de insulina de jejum, leptina, triglicérides e CT.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

Com os resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- ❖ O consumo alimentar avaliado não é condizente com os dados antropométricos obtidos no presente estudo, evidenciando um sub-relato das pacientes com obesidade;
- ❖ A intervenção dietética hipocalórica é eficaz para redução das variáveis antropométricas e de composição corporal, incluindo peso, índice de massa corporal, massa corporal magra e massa gorda após seis semanas. A manutenção da taxa metabólica de repouso corrigida pelo peso e massa corporal magra evidencia a importância dessas variáveis no sucesso da perda de peso na intervenção dietética com restrição do aporte calórico;
- ❖ A intervenção dietética mostrou ser eficaz na melhora dos indicadores bioquímicos, principalmente do perfil lipídico;
- ❖ A diminuição da oferta energética reduz a expressão do gene *UCP3* em indivíduos com obesidade;
- ❖ A expressão do gene *UCP2* está associada com a perda de peso após a intervenção dietética hipocalórica;
- ❖ Os genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP2* e *PPARG2* foram mais expressos em indivíduos com obesidade grau III quando comparado com indivíduos eutróficos, porém, os genes *UCP3* e *PLIN1* apresentaram maior expressão somente no momento pré-intervenção.
- ❖ A expressão dos genes *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* correlacionam-se positivamente com a oxidação de carboidrato e os genes *PLIN1* e *PPARG2* correlacionam-se negativamente com oxidação de lipídios, influenciando na perda de peso após seis semanas de intervenção dietética hipocalórica.

*Referências
Bibliográficas*

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFMAN, L.A.; MULLER, M. Human nutrigenomics of gene regulation by dietary fatty acids. **Progress in Lipid Research**. v. 51, p. 63-70, 2012.

ALLISON, D.B.; ZHU, S.K.; PLANKEY, M.; FAITH, M.S.; Heo, M. Differential associations of body mass index and adiposity with all-cause mortality among men in the first and second National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES I and NHANES II) follow-up studies. **Int J Obes Relat Metab Disord**. v.26, p. 410-416, 2002.

AMORIM, P.R.; GOMES, T.N.P. Gasto energético na atividade física. Rio de Janeiro: Editora Shape, 2003.

ARMANI, A.; MAMMI, C.; MARZOLLA, V.; CALANCHINI, M.; ANTELMINI, A.; ROSANO, G.M., et al. Cellular models for understanding adipogenesis, adipose dysfunction, and obesity. **J Cell Biochem**. v.110, p. 564–572, 2010.

ARVIDSSON, E.; VIGUERIE, N.; ANDERSSON, I.; VERDICH, C.; LANGIN, D.; ARNER, P. Effects of different hypocaloric diets on protein secretion from adipose tissue of obese women. **American Diabetes Association**. v.53, p.1966-1971, 2004.

BERISHA, S.Z. et al. Changes in whole blood gene expression in obese subjects with type 2 diabetes following bariatric surgery: a pilot study. **PLoS One**, San Francisco, v.6, n.3, p.1-9, 2011.

BLUNDELL J.E. et al. Body composition and appetite: fat-free mass (but not fat mass or BMI) is positively associated with self-determined meal size and daily energy intake in humans. **British Journal of Nutrition**. Brisbane, v.107, p.445-449, 2012.

BONGANHA, et al. Resting metabolic rate and body composition in postmenopausal women. **Arq Bras Endocrinol Metab**. Rio de Janeiro, v. 53, n.6, p. 755-59, 2009.

BOSCHINI, R.P.; GARCIA-JUNIOR, J.R. Regulação da expressão gênica das UCP2 e UCP3 pela restrição energética, jejum e exercício físico. **Rev. Nutr. Campinas**. v.18, n.6, p.753-764, 2005.

BOSY-WESTPHAL, A. et al. Effect of weight loss and regain on adipose tissue distribution, composition of lean mass and resting energy expenditure in young overweight and obese adults. **International Journal of Obesity**. v.37, p.1371-1377, 2013.

BOUCHARD, C.; PÉRUSSE, L.; RICE, T.; RAO, D.C. The genetics of human obesity. In: BRAY, G.A., BOUCHARD, C., JAMES W.P.T. **Handbook of obesity**. New York: Marcel Dekker. p.157-85, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Caderno de Atenção Básica- Série A. Normas e Manuais Técnicos: Obesidade. Brasília, n. 12. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL). Disponível em: http://www.sbpt.org.br/downloads/arquivos/vigitel_2012.pdf acesso 20 de fevereiro de 2015.

BRONDANI, L.A. et al. Meta-analysis reveals the association of common variants in the uncoupling protein (UCP) 1–3 genes with body mass index variability. **PLoS One.**, San Francisco, v.9, n.5, p.1-10, 2014.

BROWN et al. Description and preliminary results from a structured specialist behavioural weight management group intervention: Specialist Lifestyle Management (SLiM) programme. **BMJ Open.** v.5, p.1-10, 2015.

BUSIELLO, R.A.; SAVARESE, S.; LOMBARDI, A. Mitochondrial uncoupling proteins and energy metabolism. **Frontiers in Physiology.** Benevento. v.6, n.36, p.1-7, 2015.

CARRIÈRE, A. et al. Browning of white adipose cells by intermediate metabolites: An adaptive mechanism to alleviate redox pressure. **Diabetes.** v.63, n.10, p.3253-3265, 2014.

CARVALHO, K.M.B. Obesidade. In: CUPPARI L. **Nutrição Clínica no Adulto.** 2ª Edição. Barueri – SP: Manole; 2005. p.149-170.

CHOI, J.R.; KWON, I.S.; KWON, D.Y.; KIM, M.S.; LEE, M. TT Mutant Homozygote of Kruppel-like Factor 5 Is a Key Factor for Increasing Basal Metabolic Rate and Resting Metabolic Rate in Korean Elementary School Children. **Genomics Inform.** v. 11, n. 4, p. 263-71, 2013.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidiniumthiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal Biochem.**, Orlando, v.162, n.1, p.156–159, 1987.

CIOFFI, F.; SENESE, R.; DE LANGE, P.; GOGLIA, F.; LANNI, A.; LOMBARDI, A. Uncoupling proteins: a complex journey to function discovery. **Biofactors.** v.35, p.417–428, 2009.

CORELLA, D.; QI, L.; SORLI, J.V.; GODOY, D.; PORTOLES, O.; COLTELL, O.; GREENBERG, A.S.; ORDOVAS, J.M. Obese subjects carrying the 11482G A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. **J Clin Endocrinol Metab.** v.90, p.5121–5126, 2005.

COWBURN, G., HILLSDON, M., HANKEY, C.R. Obesity management by life-style strategies. **British Medical Bulletin.** London, v.53, n.2, p.389-408, 1997.

CUNHA S.F.C.; MACHADO J.C.; ALMEIDA G.A.N. Obesidade. In: VANNUCCHI H.; MARCHINI J.S. **Nutrição e Metabolismo – Nutrição Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007. p.170-187.

DEPIERI, T.Z.; PINTO, R.R.; CATARIN, J.K.; CARLI, M.C.L.; GARCIA - JÚNIOR, J.R. UCP-3: Regulação da expressão gênica no músculo esquelético e possível relação com o controle do peso corporal. **Arq Bras Endocrinol Metab**. Curitiba, v.48, n.3, p.337-344, 2004.

DERAM, S. et al. Effects of perilipin (PLIN) gene variation on metabolic syndrome risk and weight loss in obese children and adolescents. **J Clin Endocrinol Metab.**, Springfield, v.93, n.12, p. 4933–4940, 2008.

DERAM, S.; VILLARES, S.M.F. Genetic variants influencing effectiveness of weight loss strategies. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, Rio de Janeiro, v.53, n.2, p.129-138, 2009.

DIANO, S.; HORVATH, T.L. Mitochondrial uncoupling protein 2 (*UCP1*) in glucose and lipid metabolism. **Trends Mol Med.**, Oxford, v. 18, n.1, p. 52-58, 2012.

DIAS, A.C.F. et al. Gasto energético avaliado pela calorimetria indireta. Projeto Diretrizes. **Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina**. p.1-13, 2009.

DIENER, J.R.C. Calorimetria indireta. **Rev Ass Med Brasil.**, São Paulo, v.43, n.3, p. 245-53, 1997.

DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. v.3, p.1-85, 2009.

DULLOO, A.G.; JACQUET, J.; MONTANI, J.P.; SCHUTZ, Y. Adaptive thermogenesis in human body weight regulation: more of a concept than a measurable entity? **Obes Rev**. v.2, p.105–21, 2012.

DULLOO, A.G.; SAMEC, S.; SEYDOUX, J. Uncoupling protein 3 and fatty acid metabolism. **Biochem Soc Trans**. v.29, n.6, p.785-91, 2001.

DULLOO, A.G.; SAMEC, S. Uncoupling proteins: their roles in adaptive thermogenesis and substrate metabolism reconsidered. **British Journal of Nutrition**. Fribourg. v. 86, p. 123-139, 2001.

ELLO-MARTIN, J.A.; LEDIKWE, J.H.; ROLLS, B.J. The influence of food portionsize and energy density on energy intake: implications for weight management. **Am. J. Clin. Nutr**. v.82, p. 236S-241S, 2005.

FARIA, S.L. et al. Energy expenditure before and after roux-en-y gastric bypass. **Obes Surg.**, New York, v.22, p.1450–1455, 2012.

FARIA, S.L. et al. Metabolic profile of clinically severe obese patients. **Obes Surg.**, New York, v.22, p.1257–1262, 2012.

FENECH, M.; EL-SOHEMY, A.; CAHILL, L.; FERGUSON, L.R.; FRENCH, T.A.C.; TAI, E.S.; MILNER, J.; KOH, W.P.; XIE, L.; ZUCKER, M.; BUCKLEY, M.; COSGROVE, L.; LOCKETT, T.; FUNG, K.Y.C.; HEAD, R. Nutrigenetics and Nutrigenomics: viewpoints in the current status and applications in nutrition research and practice. **J Nutrigenet Nutrigenomics.**, Adelaide, v.4, p.69-89, 2011.

FERRANNINI E. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. **Metabolism.** v.37, p. 287-301, 1988.

FOSTER-SCHUBERT, K.E. et al. Effect of diet and exercise, alone or combined, on weight and body composition in overweight-to-obese postmenopausal women. **Obesity.**, Washington, v.20, p. 1628-1638, 2012.

FRANKENFIELD, D.; ROTH-YOUSEY, L.; CHARLENE COMPTON, C. Comparison of predictive equations for resting metabolic rate in healthy nonobese and obese adults: A systematic review. **J Am Diet Assoc.**, Chicago, v.105, n.5, p.755-789, 2005.

FRAYN, K.N. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. **American Physiological Society.** p.628-634, 1983.

FROOD, S.; JOHNSTON, L.M.; MATTESON, C.L.; FINEGOOD, D.T. Obesity, complexity, and the role of the health system. **Curr Obes Rep.**, Burnaby, v.2, p.320–326, 2013.

GAAL, L.V.; SCHEEN, A. Weight Management in Type 2 Diabetes: Current and Emerging Approaches to Treatment. **Diabetes Care.** v.38, p.1161-1172, 2015.

GIL, A.; OLZA, J.; GIL-CAMPOS, M.; GOMEZ-LLORENTE, C.; AGUILERA, C.M. Is adipose tissue metabolically different at different sites? **Int J Pediatr Obes.** v. 6, p. 13–20, 2011.

GRYGIEL-GÓRNIAK, B. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications—a review. **Nutrition Journal.** v.13, n.17, p.1-10, 2014.

HAAS, B.; SCHLINKERT, P.; MAYER, P.; ECKSTEIN, N. Targeting adipose tissue. **Diabetol Metab Syndr.** v. 4, p. 43, 2012.

Haidar, Y.M.; Cosman, B.C. Obesity epidemiology. **Clin Colon Rectal Surg.**, New York, v.24, n.4, p.205-210, 2011.

Harrold, J.A.; Widdowson, P.S.; Clapham, J.C.; Williams, G. Individual severity of obesity in unselected Wistar rats: relationship with hyperphagia. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** v. 279, n. 2, p. E340-E347, 2000.

Hasson, R. E. et al. Accuracy of four resting metabolic rate prediction equations: Effects of sex, body mass index, age, and race/ethnicity. **J Sci Med Sport.**, Victoria, v.14, n.4, p. 344–351, 2011.

Hill, J.O.; Wyatt, H.R.; Peters, J.C. Energy balance and obesity. **Circulation.** v.126, p.126-132, 2012.

Hinney, A.; Vogel, C.I.G.; Hebebrand, J. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. **Eur Child Adolesc Psychiatry.** Essen, v.19, p.297–310, 2010.

Huang, T.T. et al. A systems-oriented multilevel framework for addressing obesity in the 21st century. **Preventing chronic disease.** v.6, n.3, p.10, 2009.

Ilarde, A.; Tuck, M. Treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus and its complications: a state of the art review. **Drugs and Aging.** Auckland, v.4, n.6, p.470-491, 1994.

Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids.* Washington, DC, **Nacional Academic Press**, 2005.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

Jaime, T.J. et al. Effect of calorie restriction on energy expenditure in overweight and obese adult women. **Nutrición Hospitalaria.** v.31, n.6, p.2428-2436, 2015.

Jakicic, J.M.; Wing, R.R.; Lang, W. Bioelectrical impedance analysis to assess body composition in obese adult women: the effect of ethnicity. **Int J Obes Relat Metab Disord.**, London, v.22, n.3, p.243-249, 1998.

Janani, C.; Ranjitha-Kumari, B.D. PPAR gamma gene – A review. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews.** v. 9, p. 46-50, 2015.

Karastergiou, K.; Fried, S.K.; Xie, H.; Lee, M.J.; Divoux, A.; Rosencrantz, M.A.; et al. Distinct developmental signatures of human abdominal and gluteal subcutaneous adipose tissue depots. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism.** v.98, p. 362–371, 2013.

KEESEY, R. E.; POWLEY, T. L. Body energy homeostasis. **Appetite**. v.51, p.442-445, 2008.

KENNEDY, G. C. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. **Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.** v.140, p.578-592, 1953.

KERN, P.A. et al. Perilipin expression in human adipose tissue is elevated with obesity. **J Clin Endocrinol Metab.**, Springfield, v.89, n.3, p. 1352-1358, 2004.

KLAUS, S. Adipose tissue as a regulator of energy balance. **Curr Drug Targets.**, Hilversum, v.5, n.3, p. 241-250, 2004.

KLAUS, S. et al. Augmenting energy expenditure by mitochondrial uncoupling: a role of AMP-activated protein kinase. **Genes Nutr.**, Heidelberg, v.7, n.3, p.369–386, 2012.

KNOWLER, W.C.; BARRETT-CONNOR, E.; FOWLER, S.E., et al. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. **N Engl J Med**. v.346, p.393–403, 2002.

KNUDSEN, J.G. et al. Role of IL-6 in exercise training- and cold-induced *UCP1* expression in subcutaneous white adipose tissue. **PLoS One.**, San Francisco, v.9, n.1, p.1-8, 2014.

KORSIC, M.; GOTOVAC, K.; NIKOLAC, M.; DUSEK, T.; SKEGRO, M.; MUCKSELER, D.; et al. Gene expression in visceral and subcutaneous adipose tissue in overweight women. **Front Biosci (Elite Ed)**. v. 4, p. 2834–2844, 2012.

KOVACS et al. Genetic variation in *UCP2* (uncoupling protein-2) is associated with energy metabolism in Pima Indians. **Diabetologia**. v. 48, p. 2292–2295, 2005.

KUO, N.W.; TUNG, K.Y.; TSAI, C.H.; CHEN, Y.C.; LEE, Y.L. β 3-Adrenergic receptor gene modifies the association between childhood obesity and asthma. **J Allergy Clin Immunol**. v.134, n.3, p.731-733, 2014.

KUROKAWA, N. et al. The *ADRB3* Trp64Arg variant and BMI: a meta-analysis of 44 833 individuals. **Int J Obes.**, London, v.32, n.8, p. 1240–1249, 2008.

LEAN, M.E.J.; JAMES, W.P.T.; GARTHWAITE, P.H. Obesity without overeating? Reduced diet-induced thermogenesis in post-obese women, dependent on carbohydrate and not fat intake. *In*: BJÖRNTORP, P.; RÖSSNER, S. Obesity in Europe 88: proceedings of the 1st european congress on obesity. London: John Libbey, 1989. p.29-41.

LEFEBVRE, A.M.; LAVILLE, M.; VEGA, N.; RIOU, J.P.; VAN GAAL, L.; AUWERX, J., et al. Depot-specific differences in adipose tissue gene expression in lean and obese subjects. **Diabetes**. v. 47, p. 98–103, 1998.

LEHRKE, M.; LAZAR, M.A. The many faces of PPARgamma. **Cell**. v.123, n. 6, p. 993–999, 2005.

LIU, J. et al. The role of uncoupling proteins in diabetes mellitus. **J Diabetes Res.**, Cairo, p.1-7, 2013.

LUAN, J. et al. Evidence for gene-nutrient interaction at the PPAR-gamma locus. **Diabetes**. v.50, p.686-689, 2001.

LUIS, D.A.; ALLER, R.; IZAOLA, O.; GONZALEZ-SAGRADO, M.; CONDE, R. Relation of Trp64Arg polymorphism of beta 3-adrenergic receptor gene to adipocytokines and fat distribution in obese patients. **Ann NutrMetab**. v.52, p.267-271, 2008.

MAESTRINI, S. et al. Lack of association between UCP2 gene polymorphisms and obesity phenotype in Italian Caucasians. **Journal of Endocrinological Investigation**. v.26, n.10, p.985-990, 2003.

MAHADIK, S. R. et al. Uncoupling protein-2 (*UCP1*) gene expression in subcutaneous and omental adipose tissue of Asian Indians. **Adipocyte**, Philadelphia, v.1, n.2, p.101–107, 2012.

MALTA, D.C. et al. Evolução anual da prevalência de excesso de peso e obesidade em adultos nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal entre 2006 e 2012. **Rev Bras Epidemiol Suppl PeNSE**., Brasília, p. 267-276, 2014.

MARDINOGLU, A.; HEIKER, J.T.; GÄRTNER, D.; BJÖRNSSON, E.; SCHÖN, M.R.; FLEHMIG, G.; KLÖTING N.; KROHN, K.; FASSHAUER, M.; STUMVOLL, M.; NIELSEN, J.; BLÜHER, M. Extensive weight loss reveals distinct gene expression changes in human subcutaneous and visceral adipose tissue. **Scientific Reports**. v.5, p.14841, 2015.

MARTI, A.; MARTINEZ, J.A. Genetics of obesity: gene-diet interaction. **Int J VitamNutr Res**. v.76, p.1–10, 2006.

MARTI, A. MARTINEZ-GONZALEZ, M.A. MARTINEZ, J.A. Interaction between genes and lifestyle factors on obesity. **Proc. Nutr. Soc.** v.67, p.1-8, 2008.

MARTIN, C.K.; HEILBRONN, L.K.; JONGE, L., et al. Effect of Calorie Restriction on Resting Metabolic Rate and Spontaneous Physical Activity. **Obesity**. v.15, n.12, p. 2964-2973, 2007.

MARTINEZ, J.A.; FRÜHBECK, G. Regulation of energy balance and adiposity: a model with new approaches. **J PhysiolBiochem**. v.52, p.255-258, 1996.

MASUAD, S.; YE, S. Effect of peroxisome proliferator activated receptor-gamma gene Pro12Ala variant on body mass index: a meta-analysis. **J Med Genet.** v.40, p.773-780, 2003.

MASUO, K.; LAMBERT, G.W. Relationships of adrenoceptor polymorphisms with obesity. **J Obes.**, New York, 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3092628/>. Acesso em: 15 de Jun. 2015.

MAYER, J. Regulation of energy intake and the body weight: the glucostatic theory and the lipostatic hypothesis. **Acad. Sci.**, New York, v.63, p.15-43, 1955.

MEDINA-GOMEZ, G.; GRAY, S.L.; YETUKURI, L.; SHIMOMURA, K.; VIRTUE, S.; CAMPBELL, M.; CURTIS, R.K.; JIMENEZ-LINAN, M.; BLOUNT, M.; YEO, G.S.H.; LOPEZ, M.; SEPPÄNEN-LAAKSO, T.; ASHCROFT, F.M.; OREŠIČ, M.; VIDAL-PUIG, A. PPAR gamma 2 prevents lipotoxicity by controlling adipose tissue expandability and peripheral lipid metabolism. **PLoS Genet.** v. 3, n. 4, p. e64, 2007.

MELLER, F.O. et al. Associação entre circunferência da cintura e índice de massa corporal de mulheres brasileiras: PNDS 2006. **Ciência & Saúde Coletiva.**, Rio de Janeiro, v.19, n.1, p.75-81, 2014.

MELLINKOFF, S. M.; FRANKLAND, M.; BOYLE, D.; GREIPEL, M. Relationship between serum amino acid concentration and fluctuations in appetite. **J. Appl Physiol.** v.8, p.535-538, 1956.

MELO, C.M.; TIRAPEGUI, J.; RIBEIRO, S.M.L. Gasto energético corporal: conceitos, formas de avaliação e sua relação com a obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, Rio de Janeiro, v.52, n.3, p. 452-464, 2008.

MENOZZI, R.; BONDI, M.; BALDINI A.; VENNARI, M.G.; VELARDO, A.; DEL RIO, G. Resting metabolic rate, fat-free mass and catecholamine excretion during weight loss in female obese patients. **Br J Nutr.** v.84, n.4, p.515-20, 2000.

MODESITT, S.C.; HSU, J.Y.; CHOWBINA, S.R.; LAWRENCE, R.T.; HOEHN, K.L. Not all fat is equal: differential gene expression and potential therapeutic targets in subcutaneous adipose, visceral adipose, and endometrium of obese women with and without endometrial cancer. **Int J Gynecol Cancer.** v. 22, p. 732-741, 2012.

MILLET, L.; VIDAL, H.; ANDREELLI, F.; LARROUY, D.; RIOU, J.P.; RICQUIER, D.; et al. Increased uncoupling protein-2 and -3 mRNA expression during fasting in obese and lean humans. **J Clin Invest.** v.100, p.2665-70, 1997.

MINGRONE, G. et al. Decreased uncoupling protein expression and intramyocytic triglyceride depletion in formerly obese subjects. **Obes Res.**, v.11, n.5, p.632-640, 2003.

MONSALVE, F.A. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor targets for the treatment of metabolic diseases mediators of inflammation. **Mediators Inflamm.**, Oxford, 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3678499/>. Acesso em: 11 de Dez. 2014.

MORELES, A.; MARTINEZ, J.A.; MARTI, A. Genetics of Obesity. **Curr Obes Rep.**, New York, v.2, p.23-31, 2013.

MORTON, G.J.; SCHWARTZ, M.W. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 25 Suppl.** v.5, p.S56-S62, 2001.

MOTTAGUI-TABAR, S. et al. Evidence for an important role of perilipin in the regulation of human adipocyte lipolysis. **Diabetologia.** v.46, p.789-797, 2003.

NICKLAS B.J. et al. Effect of exercise intensity on abdominal fat loss during calorie restriction in overweight and obese postmenopausal women: a randomized, controlled trial. **Am J Clin Nutr.** v.89; p.1043-1052, 2009.

NIEMAN, D.C.; BROCK, D.W.; BUTTERWORTH, D.; UTTER, A.U.; NIEMAN, C.C. Reducing diet and/or exercise training decreases the lipid and lipoprotein risk factors of moderately obese women. **J Am Coll Nutr.** v.21, n.4, p.344-50, 2002.

NONINO, C.B. Influence of meal time on salivary circadian cortisol rhythms and weight loss in obese women. **Nutrition.**, Ribeirão Preto, v.23, p.385-391, 2007.

NOOKAEW, I.; SVENSSON, P.A.; JACOBSON, P.; JERNÅS, M.; TAUBE, M.; LARSSON, I.; ANDERSSON-ASSARSSON, J.C.; SJÖSTRÖM, L.; FROGUEL, P.; WALLEY, A.; NIELSEN, J.; CARLSSON, L.M. Adipose tissue resting energy expenditure and expression of genes involved in mitochondrial function are higher in women than in men. **J Clin Endocrinol Metab.** v. 98, n. 2, p.E370-8, 2013.

OBERCOFLER, H. et al. Uncoupling protein-2 gene: reduced mRNA expression in intraperitoneal adipose tissue of obese human. **Diabetologia.** v.41, p.940-946, 1998.

OCHOA, M.C.; RAZQUIN, C.; MARTINEZ-GONZALEZ, M.A.; MARTI, A.; MARTINEZ-HERNANDEZ J.A. Role of PPARG2 polymorphism in body weight regulation. **Future Lipidol.**, v.3, p.31-41, 2008.

OBERCOFLER, H. et al. Uncoupling protein-2 gene: reduced mRNA expression in intraperitoneal adipose tissue of obese human. **Diabetologia.** v. 41, p. 940-946, 1998.

ORDOVÁS, J.M.; ROBERTSON, R.; CLEIRIGH, E.N. Gene–gene and gene–environment interactions defining lipid-related traits. **Current Opinion in Lipidology.** v.22, p.129-133, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Obesidade: prevenção e controle e epidemia global relatório da consultoria da OMS. São Paulo: Editora Roca; 2004.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Global status report on non communicable diseases 2010. Geneva: WHO; 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report FAO/WHO Expert Consultation. WHO Technical Report Series, No. 916 (TRS 916). Geneva: WHO; 2003.

OUYANG, X. et al. Anthropometric parameters and their associations with cardio-metabolic risk in Chinese working population. **Diabetology & Metabolic Syndrome**. Nanjing, v.7, n. 37, p. 2-7, 2015.

PEARCEY, S.M.; CASTRO, J.M. Food intake and meal patterns of weight-stable and weight-gaining persons. **The American Journal of Clinical Nutrition**., Kennesaw, v.76, p. 107-112, 2002.

PEDERSEN, S.B.; BORGEUM, J.D.; KRISTENSEN, K.; NORRELUND, H.; OTTO, J.; JORGENSEN, L.; et al. Regulation of uncoupling protein (UCP) 2 and 3 in adipose and muscle tissue by fasting and growth hormone treatment in obese humans. **Int J Obes Metab Disord**. v.24, n.8, p.968-75, 2000.

PEDERSEN, S.B.; NYHOLM, B.; KRISTENSEN, K.; NIELSEN, M.F.; SCHMITZ, O.; RICHELSEN, B. Increased adiposity and reduced adipose tissue mRNA expression of uncoupling protein-2 in first-degree relatives of type 2 diabetic patients: evidence for insulin stimulation of UCP-2 and UCP-3 gene expression in adipose tissue. **Diabetes Obes Metab**. v. 7, n. 1, p. 98-105, 2005.

PENA, S.D.J. et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One*., San Francisco, v.6, n.2, 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3040205/>. Acesso em: 06 de Jun. 2015.

PETROVIC, N.; WALDEN, T. B.; SHABALINA, I. G.; TIMMONS, J. A.; CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Chronic peroxisome proliferator-activated receptor (*PPAR* γ) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, *UCP1*-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. **J. Biol. Chem**. v.285, p.7153–7164, 2010.

PHULUKDAREE, A. et al. Uncoupling protein 2 -866G/A and uncoupling protein 3 -55C/T polymorphisms in young South African Indian coronary artery disease patients. **Gene**., v.524, p.79–83, 2013.

PI-SUNYER, X. The Medical Risks of Obesity. **National Institutes of Health**. v.121, n.6, p.21–33, 2009.

QI, L.;CORELLA, D.;SORLI, J.V.;PORTOLES, O.;SHEN, H.;COLTELL, O.;GODOY, D.;GREENBERG, A.S.;ORDOVAS, J.M. Genetic variation at the perilipin (PLIN) locus is associated with obesity-related phenotypes in white women. **Clin Genet.** v.66, p.299–310, 2004.

QI, L.;SHEN, H.;LARSON, I.;SCHAEFER, E.J.;GREENBERG, A.S.;TREGOUET, D.A.;CORELLA, D.;ORDOVAS, J.M. Gender-specific association of a perilipin gene haplotype with obesity risk in a white population. **Obes Res.** v.12, p.1758–1765, 2004.

RAY, H. et al. Depot-specific differences in perilipin and hormone-sensitive lipase expression in lean and obese. **Lipids Health Dis.**, London, v.8, n.58, p.1-10, 2009.

RAZQUIN, C.; MARTI, A.; MARTINEZ, J.A. Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPARG. Approaches for personalized nutrition. **Mol Nutr Res.** v. 55, p. 136-149, 2011.

REHRER, C.W. et al. Regional differences in subcutaneous adipose tissue gene expression. **Obesity.** Colorado., v.20, p.2163-2173, 2012.

REN, D.; COLLINGWOOD, T.N.; REBAR, E.J.; WOLFFE, A.P.; CAMP, H.S. PPARgamma knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPARgamma2 but not PPARgamma1 reactivates adipogenesis. **Genes Dev.** v. 16, n. 1, p. 27–32, 2002.

ROLLS, B.J. The role of energy density in the overconsumption of fat. **J. Nutr.** v.130, p. 268S-271S, 2000.

RUIZ, J.R. et al. Preliminary findings on the role of *PLIN1* polymorphisms on body composition and energy metabolism response to energy restriction in obese women. **Br J Nutr.**, Wallingford, v.106, n.4, p. 486–490, 2011.

RUIZ, J.R. et al. Validity of resting energy expenditure predictive equations before and after an energy-restricted diet intervention in obese women. **PLoS One.**, San Francisco, v.6, n.9, p. 1-11, 2011.

SALIBA, L.F. et al. Obesity-related gene ADRB2, ADRB3 and GHRL polymorphisms and the response to a weight loss diet intervention in adult women. **Genet Mol Biol.**, v.37, n.1, p. 15-22, 2014.

SCAGLIUSI, F.B.; LANCHÁ-JÚNIOR, A.H. Subnotificação da ingestão energética na avaliação do consumo alimentar. **Rev. Nutr.**, Campinas. v.16, n.4, p.471-481, 2003.

SCHMIDT, S.L. et al. Adrenergic control of lipolysis in women compared with men. **J Appl Physiol.**, Bethesda, v.117, n.9, p.1008–1019, 2014.

SCHNEIDER, P.; MEYER, F. O papel do exercício físico na composição corporal e na taxa metabólica basal de meninos adolescentes obesos. **R. bras. Ci e Mov.**, São Caetano do Sul, v.15 , n.1, p.101-107, 2007.

SHARE, B.L. et al. Effects of a multi-disciplinary lifestyle intervention on cardiometabolic risk factors in young women with abdominal obesity: A randomised controlled trial. **PLoS One**. v.10, n.6, p.1-15, 2015.

SHIWAKU, K.; NOGI, A.; ANUURAD, E.; KITAJIMA, K.; ENKHAMAA, B.; SHIMONO, K.; YAMANE, Y. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the b3-adrenergic receptor gene. **International Journal of Obesity**. v.27, p.1028–1036, 2003.

SIMONSON, D.C.; DEFRONZO, R.A. Indirect calorimetry: methodological and interpretative problems. **Am J Physiol.**, v.258, p.E399-E412, 1990.

SMITH, C.E.; ORDOVÁS, J.M. Update on perilipin polymorphisms and obesity. **Nutr Rev.**, Washington, v.70, n.10, p.611–621, 2012.

SOENEN, S. et al. Relationship between perilipin gene polymorphisms and body weight and body composition during weight loss and weight maintenance. **Physiology & Behavior.**, New York, v.96, p.723–728, 2009.

SPEAKMAN, J.R.; WESTERTERP, K. R. Associations between energy demands, physical activity, and body composition in adult humans between 18 and 96 y of age1–3. **Am J Clin Nutr.**, Bethesda, v.92 , n.4, p. 826-834, 2010.

SPIEGELMAN, B. M. PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. **Diabetes**. v.47, p.507-514, 1998.

STEEMBURGO, T.; DALL'ALBA, V.; GROSS, J.L.; AZEVEDO, M.J. Fatores Dietéticos e Síndrome Metabólica. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v.51, n.9, p.1425-1433, 2007.

SUEN, V.M.; UNAMUNO, M.R.; MARCHINI, J.S. Breath CO2 enrichment in obese women during the fast and fed states. **Nutr Res**. v.23, p.1153-63, 2003.

SWARBRICK, M.M.; CHAPMAN, C.M.L.; MCQUILLAN, B.M.; HUNG, J.; THOMPSON, P.L.; BEILBY, J.P. A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. **Society of the European Journal of Endocrinology**. v.144, p.277-282, 2001.

TAI, E.S.; ORDOVAS, J.M. The role of perilipin in human obesity and insulin resistance. **Curr Opin Lipidol**. v.18, p.152–156, 2007.

TAKENAKA, A.; NAKAMURA, S.; MITSUNAGA, F.; INOUE-MURAYAMA, M.; UDONO, T.; SURYOBROTO, B. Human-specific SNP in obesity genes, adrenergic receptor beta2 (ADRB2), Beta3 (ADRB3), and PPAR γ 2 (PPARG), during primate evolution. **PLoS One**. v. 7, n. 8, p. 43461, 2012.

TAVARES, V.; HIRATA, M.H.; HIRATA, R.C. Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ): Estudo molecular na homeostase da glicose, metabolismo de lipídeos e abordagem terapêutica. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, Rio de Janeiro, v.51,n.4, p.526-533, 2007.

THOMSON, R.L. et al. The effect of a hypocaloric diet with and without exercise training on body composition, cardiometabolic risk profile, and reproductive function in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. **J Clin Endocrinol Metab**. Adelaide., v. 93, n. 9, p. 3373-3380, 2008.

TODA, C.; DIANO, S. Mitochondrial *UCP1* in the central regulation of metabolism. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.**, Amsterdam, v.28, n.5, p. 757–764, 2014.

TSUBOYAMA-KASAOKA, N.; EZAKI, O. Mitochondrial uncoupling proteins 3 (UCP3) in skeletal muscle. **Front Biosc**. v.1, n. 6, p. 570-4, 2001.

URS, S.; SMITH, C.; CAMPBELL, B.; SAXTON, A.M.; TAYLOR, J.; ZHANG, B., et al. Gene expression profiling in human preadipocytes and adipocytes by microarray analysis. **J Nutr**. v. 134, p. 762–770, 2004.

URSINO, M.G.; VASINA, V.; RASCHI, E.; CREMA, F.; DE PONTI, F. The β 3-adrenoreceptor as a therapeutic target: current perspectives. **Pharmacol Res**. v. 59, p.221-234, 2009.

VELOSO, H.J.F.; SILVA, A.A.M. Prevalência e fatores associados à obesidade abdominal e ao excesso de peso em adultos maranhenses. **Rev Bras Epidemiol.**, São Paulo, v.13, n.3, p.400-412, 2010.

VALLE, V.S.; BIEHL, C.; MELLO, D.B.; FORTES, M.S.R; DANTAS, E.H.M. Efeito da dieta hipoenergética sobre a composição corporal e nível sérico lipídico de mulheres adultas com sobrepeso. **Rev Nutr**. Campinas, v.23, n.6, p.959-967, 2010.

VIDAL-PUIG, A.; CONSIDINE, R.V.; JIMENEZ-LIÑAN, M.; WERMAN, A.; PORIES, W.J.; CARO, J.F. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expresión in human tisúes: effects of obesity, weight loss and regulation by insulin and glucocorticoids. **Journal of Clinical Investigation**. v.99, p.2416-2422, 1997.

WADDEN, T.A.; BUTRYN, M.L.; WILSON, C. Lifestyle Modification for the Management of Obesity. **Gastroenterology**. Philadelphia., v.132, p.2226-2238, 2007.

WEIJS, P.J.M.; VANSANT, G.A.A.M. Validity of predictive equations for resting energy expenditure in Belgian normal weight to morbid obese women. **Clin Nutr.**, Kidlington, v.29, n.3, p.347–351, 2010.

WEIR, J.B. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. **J Physiol.**, London, v.109, n.1-2, p.1-9, 1949.

WOOD, R.J.; VOLEK, J.S.; LIU, Y.; SHACHTER, N.S.; CONTOIS, J.H.; FERNANDEZ, M.L. Carbohydrate restriction alters lipoprotein metabolism by modifying VLDL, LDL, and HDL subfraction distribution and size in overweight men. **J Nutr.** v.136, n.2, p.384-9, 2006.

WU, J.; COHEN, P.; SPIEGELMAN, B.M. Adaptive thermogenesis in adipocytes: is beige the new brown? **Genes Dev.** v.27, p.234–250, 2013.

WU, J. et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. **Cell.** v.150, p.366–376, 2012.

YAO, Y.S. et al. Association between PPAR- γ 2 Pro12Ala polymorphism and obesity: a meta-analysis. **Mol Biol Rep.**, Dordrecht, 2014. In press. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007/s11033-014-3838-6>. Acesso em: 14 Jul 2015.

YUNSHENG, M. et al. Association between eating patterns and obesity in a free-living us adult population. **Am J Epidemiol.** v.158, p.85-92, 2003.

Apêndices

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido das pacientes que realizaram intervenção dietética.



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa intitulada **“Análise de expressão gênica em mulheres obesas grau III antes e após intervenção dietética e perda de peso”** coordenada pela professora Dra. Carla Barbosa Nonino, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo e com participação da aluna de Mestrado Cristiana Cortes de Oliveira. Essa pesquisa irá incluir pacientes com obesidade grau III e magros e apresenta o objetivo de avaliar a expressão dos genes *ADBR3*, *UCPs*, *PLIN*, *PPARG2*, em tecido de gordura antes e após dieta com baixa caloria para perda de peso.

Caso você aceite participar, você será incluída em um programa de internação para redução de peso já existente neste serviço. Este programa chamado “Programa de internação” acontece na enfermaria de Nutrologia do HCFMRP, tem duração de 8 semanas e conta com vários profissionais incluindo médicos, nutricionistas e enfermeiros que acompanham as pacientes por todo o período de internação.

No primeiro dia da internação serão realizadas as seguintes avaliações:

- 1-) Medidas de peso, altura, circunferência do abdômen,
- 2-) Um exame que verifica sua quantidade de músculo e gordura. Esse exame é chamado Bioimpedância Elétrica, é indolor e não invasivo e realizado com você deitado no leito, com adesivos colados na pele da mão e pé direitos. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 4 horas. Esse exame tem duração de 3 minutos.
- 3-) Um exame que verifica seu gasto de energia chamado calorimetria indireta. Nesse exame, você ficará deitado e usará um capacete transparente pelo qual medimos a quantidade de oxigênio que está consumindo. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 8 horas. Esse exame terá duração de 30 minutos.
- 4-) Coleta de 2g de tecido de gordura do abdômen (aproximadamente 1/2 colher de café) para análise da expressão gênica. Essa coleta será realizada por um médico cirurgião especializado, por meio de um pequeno corte (1 cm) no seu abdômen com anestesia local e depois fechados com pontos. Esse procedimento poderá causar leves desconfortos como dores, hematomas e inchaços no local.
- 5-) Coleta de 10 ml de sangue (aproximadamente uma colher de sopa). Será realizada por enfermeiro por meio de uma picada de agulha. Esse procedimento poderá causar uma pequena mancha arroxeadada no local que desaparece em poucos dias.
- 6-) Análise da sua alimentação por meio do Recordatório 24 horas (você deve relatar para o pesquisador todos os alimentos e preparações e as quantidades ingeridas durante 1 dia).

Durante as 8 semanas de internação você receberá dieta com baixa caloria (1200 kcal) distribuídas em seis refeições por dia (café da manhã, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar e lanche da noite). No último dia de internação todos os procedimentos serão realizados novamente.

Sua participação é voluntária nesta pesquisa e estará ajudando a conhecer a influência da dieta e perda de peso na expressão de genes no tecido de gordura, contribuindo para que novos métodos de tratamento para obesidade sejam adotados.

Queremos deixar claro que será garantido o sigilo da sua identidade e a privacidade das informações coletadas. Esclarecemos que você não receberá nenhum pagamento do pesquisador ou do hospital e que você será devidamente acompanhado durante todo o período do estudo e poderá desistir de participar a qualquer momento, sem que isto prejudique seu atendimento e acompanhamento habitual. No caso de você não entender alguma parte deste consentimento, perguntas podem ser feitas ao responsável pela pesquisa antes de assiná-lo. Os pesquisadores também terão o compromisso de mantê-lo atualizado das informações durante o período do estudo, mesmo que isso possa afetar sua vontade de continuar participando.

No caso de alterações nos exames você será comunicado e orientado para tratamento, se necessário. Caso ocorra dano decorrente da participação na pesquisa, você terá direito a indenização conforme as leis vigentes no país.

Qualquer dúvida apresentada durante a realização do estudo ou a necessidade de esclarecimentos, você poderá entrar em contato conosco pelo telefone (16) 3602-4810 ou pelo email cristiana.nutricionista@hotmail.com ou no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de medicina de Ribeirão Preto pelo telefone (16) 36022228.

Eu, _____, RG: _____, _____ anos de idade, concordo com minha participação nesta pesquisa e declaro ter compreendido o termo de consentimento acima sendo minha participação inteiramente voluntária.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____

Nome por extenso da participante

Assinatura da participante

Nome por extenso do pesquisador da equipe

Assinatura do pesquisador da equipe

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido das pacientes eutróficas.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidada a participar da pesquisa intitulada **“Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético de indivíduos obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica”** coordenada pela professora Dra. Carla Barbosa Nonino, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo e com participação do aluno de mestrado Bruno Affonso Parenti de Oliveira. Essa pesquisa irá incluir pacientes com obesidade grau III e magros e apresenta o objetivo de avaliar a expressão dos genes *ADRB3, UCPs, PLIN, PPARG2* em tecido de gordura.

Para você participar da pesquisa, você será selecionada a partir dos atendimentos no Hospital Estadual. A coleta do tecido de gordura será realizada durante procedimento cirúrgico de hérnia umbilical (incisional ou epigástrica) ou colelitíase sem colecistite aguda. Durante a cirurgia, o cirurgião irá coletar 2g de tecido de gordura do abdômen (1/2 colher de café) para posterior análise da expressão gênica. Ressalto que isso não modificará os resultados da cirurgia, já que este tecido será coletado sem a necessidade de procedimento extra pelo médico cirurgião. Caso você aceite participar da pesquisa, um dia antes da cirurgia deverá comparecer ao Ambulatório de Cirurgia Bariátrica do Hospital das Clínicas da FMRP-USP, dessa forma serão realizadas as seguintes avaliações:

1-) Medidas de peso, altura, circunferência do abdômen.

2-) Um exame que verifica sua quantidade de músculo e gordura. Esse exame é chamado Bioimpedância Elétrica, é indolor e não invasivo e realizado com você deitada no leito, com adesivos colados na pele da mão e pé direitos. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 4 horas. Esse exame tem duração de 3 minutos.

3-) Um exame que verifica seu gasto de energia chamado calorimetria indireta. Nesse exame, você ficará deitada e usará um capacete transparente pelo qual medimos a quantidade de oxigênio que está consumindo. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 8 horas. Esse exame terá duração de 30 minutos.

4-) Analise da sua alimentação (todos os alimentos que você consome durante um dia) por meio do questionário chamado de Recordatório 24 horas.

Todas as avaliações serão realizadas em um único momento.

Esclarecemos que a coleta do tecido de gordura não trará riscos adicionais, além do procedimento cirúrgico que você irá realizar.

Sua participação é voluntária nesta pesquisa e estará ajudando a conhecer a influência da expressão de genes no tecido de gordura, contribuindo para que novos métodos de tratamento para obesidade sejam validados e adotados.

Queremos deixar claro que será garantido o sigilo da identidade e a privacidade das informações do seu prontuário e dos dados. Você será devidamente acompanhado durante todo o período do estudo e poderá desistir de participar a qualquer momento, sem que isto prejudique seu atendimento e acompanhamento habitual.

Esclarecemos que você não receberá nenhum pagamento do pesquisador ou do hospital e que será prestada informação atualizada durante o estudo, mesmo que isso possa afetar a sua vontade de continuar dele participando.

No caso de alterações nos exames você será comunicado e orientado para tratamento, se necessário. Caso ocorra dano decorrente da participação na pesquisa, você terá direito a indenização conforme as leis vigentes no país.

Qualquer dúvida apresentada durante a realização do estudo ou a necessidade de esclarecimentos, você poderá entrar em contato conosco pelo telefone (16) 3602-4810 ou pelo email bruno_parenti@usp.br ou no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de medicina de Ribeirão Preto pelo telefone (16) 36022228.

Eu, _____, RG: _____, _____ anos de idade, concordo com minha participação nesta pesquisa e declaro ter compreendido o termo de consentimento acima sendo minha participação inteiramente voluntária.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____

Nome por extenso da participante

Assinatura da participante

Nome por extenso do pesquisador da equipe

Assinatura do pesquisador da equipe

APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para guarda de material biológico.

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Eu, Prof^a Dra. Carla Barbosa Nonino, declaro ser responsável pelo biorrepositório **Nutrição e genômica** criado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, que tem o objetivo de guardar amostras de sangue e tecido adiposo tanto para genotipagem quanto para análise de expressão de genes para posterior associação com doenças.

Desta forma, gostaria da sua permissão para guardar uma amostra de seu tecido adiposo e sangue para fins de pesquisa e análise científica. Esses materiais serão utilizados posteriormente para análise genética (análise do seu DNA e expressão gênica).

Este material é coletado durante procedimentos de coleta de sangue e biopsia. Após coletado será guardado no freezer -80°C no laboratório de nutrição do departamento de Clínica Médica.

Sua participação é voluntária, tendo liberdade de aceitar ou não que sua amostra seja guardada, sem risco de qualquer penalização ou prejuízo no atendimento que lhe for prestado. O (A) Sr. (a) também tem o direito de retirar seu consentimento a qualquer momento do estudo.

Esclarecemos que você não receberá nenhum pagamento do pesquisador ou do hospital e que será prestada informação atualizada durante o estudo, mesmo que isso possa afetar a sua vontade de continuar dele participando.

Eu me comprometo a identificar as amostras e os dados coletados de modo que garanta o seu sigilo e a confidencialidade de seus dados, para isso a sua amostra de sangue e tecido será identificada por meio de números.

Ao final deste documento, o(a) senhor(a) poderá escolher se quer ou não ser comunicado de cada nova pesquisa que poderá ser feita com o seu material armazenado.

O (a) senhor (a) me passará todos os dados de como posso lhe encontrar e garanto fornecer as informações de seu interesse, além de receber eventuais benefícios provenientes do estudo com seu material biológico.

Declaro que toda nova pesquisa será submetida a análise por um Comitê de Ética em Pesquisa.

Agradeço a colaboração, colocando-me à disposição para qualquer dúvida ou esclarecimentos durante a realização do estudo, você poderá entrar em contato conosco pelo telefone (16) 3602-4810 ou pelo email carla@fmrp.usp.br ou no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto pelo telefone (16) 36022228.

Atenciosamente,

Carla Barbosa Nonino
Professora do Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da
Universidade de São Paulo

Certificado de Consentimento

Eu, _____, RG: _____,
morador na rua _____, nº _____, bairro _____, cidade _____,
telefone _____ abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, aceito
que minha amostra de material biológico seja armazenada no Hospital das Clínicas de
Ribeirão Preto, sob a responsabilidade Profª Dra. Carla Barbosa Nonino, para fins de pesquisa
e análise científica.

Eu **QUERO** ser comunicado e assinar um novo termo de consentimento a cada nova
pesquisa que for desenvolvida com o meu material biológico que está armazenado;

Eu **NÃO QUERO** ser comunicado e assinar um novo termo de consentimento a cada nova
pesquisa que for desenvolvida com o meu material biológico que está armazenado;


Ribeirão Preto, _____ de _____ de 20__.

Assinatura do doador ou responsável.


Anexos

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética do HCFMRP-USP.



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Ribeirão Preto, 25 de setembro de 2013

Ofício nº 3551/2013
CEP/FC

PROCESSO HCRP nº 9324/2013

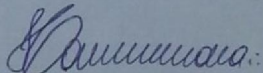
Prezadas Pesquisadoras,

O trabalho intitulado **“ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA EM MULHERES OBESAS GRAU III ANTES E APÓS INTERVENÇÃO DIETÉTICA E PERDA DE PESO”, Versão 2 modificado em 06/08/2013**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 374ª Reunião Ordinária realizada em 23/09/2013, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Paciente) Versão 2 modificado em 06/08/2013; o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Grupo Controle) Versão 2 modificado em 06/08/2013 e o Termo de Consentimento para Guarda de Material Biológico Versão 2 modificado em 06/08/2013.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 196/96 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa. De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Atenciosamente.



PROF. DR. FABIO CARMONA
Vice-Coordenador do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimas Senhoras
CRISTIANA CORTES DE OLIVEIRA
PROFª DRª VIVIAN MARQUES MIGUEL SUEN (Orientadora)
Depto. de Clínica Médica

Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP

Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
FWA-00002733; IRB-00002186 e Registro PB/CONEP nº 5440
(016) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br

ANEXO B – Aprovação da pesquisa nas dependências do Hospital Estadual.



Ribeirão Preto, 13 de novembro de 2013.

Projeto de Pesquisa: “Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético de indivíduos obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica”.

Pesquisador Principal: Bruno Affonso Parenti de Oliveira

Contatos: Tel.: (16) 99715-3118

e-mail: bruno_parenti@hotmail.com

bruno_parenti@usp.br

Orientadora: Prof. Dra. Carla Barbosa Nonino

Contatos: Tel.: (16) 98124-0707

e-mail: carla@fmrp.usp.br.

Área de especialização:

Fica autorizada a realização da pesquisa supracitada nas dependências do **HOSPITAL ESTADUAL DE RIBEIRÃO PRETO “PROF DR CARLOS EDUARDO MARTINELLI”**, a partir do momento que forem entregues, na secretaria da administração, os documentos abaixo relacionados:

(x) parecer com APROVAÇÃO do Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRPUSP

() outros

O pesquisador está ciente que não haverá financiamento, por parte do HERibeirão, para quaisquer materiais que não sejam de uso habitual desta Instituição, incluindo bens de consumo e equipamentos.

O Pesquisador também declara estar ciente e plenamente de acordo com a determinação da Diretoria do Hospital Estadual de Ribeirão Preto que estabelece que, todo e qualquer material e/ou equipamento trazidos para utilização nas dependências do hospital deverão ser previamente entregues para esterilização ou avaliação na Central de Material e Esterilização do HERibeirão, depois de acordado com a Enfermeira responsável pelo setor.

O Pesquisador se compromete em encaminhar a esta Diretoria o Relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados bem como comunicar qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Bruno A Parenti de Oliveira
Bruno Affonso Parenti de Oliveira
Pesquisador Principal

Wilson Salgado Júnior
Prof Dr Wilson Salgado Júnior
Diretor Geral

ANEXO C – Esquema alimentar padrão de 1200 kcal seguido pelas pacientes hospitalizadas do grupo G1.

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

www.hcrp.fmrp.usp.br



PLANO ALIMENTAR – 1200 KCAL

PACIENTE: _____

HORÁRIO	ALIMENTO	QUANTIDADE
Café da Manhã 08:00h	Leite desnatado Café Pão francês Margarina	1 copo americano (150 ml) 1 xícara de café 1 unidade 1 colher de chá rasa
Lanche 10:00h	Fruta	1 unidade M ou 1 fatia M
Almoço e Jantar 12:00h e 19:00h	Salada de folha Arroz Feijão Legumes Carne magra Azeite de Oliva Fruta	1 prato de sobremesa 3 colheres de sopa 2 colheres de sopa 2 colheres de sopa 1 bife P (60 g) 1 colher de chá 1 unidade P ou 1 fatia fina
Lanche 15:00	Fruta Bolacha água e sal	1 unidade M ou 1 fatia M 3 unidades
Ceia 21:00	Leite desnatado Fruta	1 copo americano (150 ml) 1 unidade P ou 1 fatia fina

OBS: Não utilizar açúcar, apenas adoçante.

Para cada pessoa, a quantidade de óleo vegetal utilizada para preparar os alimentos não deve ultrapassar 2 colheres de sobremesa por dia OU 1/3 de frasco (300 ml) por mês.

DATA: ____/____/____