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

DRIELE CRISTINA GOMES QUINHONEIRO

**Análise da expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e
lipídico em mulheres com obesidade grau III após suplementação de extrato de
chá verde descafeinado**

**Ribeirão Preto
2016**

DRIELE CRISTINA GOMES QUINHONEIRO

Análise da expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em mulheres com obesidade grau III após suplementação de extrato de chá verde descafeinado

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

2016

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

Quinhoneiro, Driele Cristina Gomes

Análise da expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em mulheres com obesidade grau III após suplementação de extrato de chá verde descafeinado. Ribeirão Preto, 2016.

102 p. : il. ; 30 cm

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

Orientadora: Nonino, Carla Barbosa.

1. Obesidade. 2. Chá Verde. 3. GEGC. 4. Expressão gênica.

Driele Cristina Gomes Quinhoneiro

Análise da expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em mulheres com obesidade grau III após suplementação de extrato de chá verde descafeinado, 2016.

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: _____

***Aos meus pais, avós e irmãos que
sempre deram asas aos meus sonhos.***

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre me guiar de volta aos caminhos de amor e crescimento moral. Aos meus pais, Marcia e Marcelo, pelo apoio, amor imensurável e dedicação aos seus filhos. Desde pequena recebo incentivo para voar e a certeza de que onde quer que eu esteja, meu lar repleto de amor e carinho estará comigo.

Aos meus avós, irmãos e família, por estarem sempre presentes em todas as fases da minha vida e comemorando juntos cada etapa cumprida.

Ao Pedro, meu amor, por caminhar ao meu lado, possibilitar um intenso aprendizado e bons momentos juntos. As minhas pequenas, Amora e Cacau, pelo carinho e distração durante a elaboração dessa dissertação.

A minha orientadora, Carla Barbosa Nonino, pelo crescimento profissional, discussões e aprendizados, e também pelos conselhos e acolhimento.

A equipe do Laboratório de Estudo em Nutrigenômica (LEN), Marcela Pinhel que desde o início do meu projeto tem sido minha “mãe” em Ribeirão Preto, aconselhando-me com carinho, amor e honestidade. À Carolina Nicoletti pelos ensinamentos, diversão e compreensão. Ao Bruno Parenti e Cristiana Oliveira pelas conversas e discussões que me enriqueceram profissionalmente e pessoalmente.

A Natália Yumi, Camila Bitu, Amanda Nishida pela ajuda durante as coletas e análises com bom humor, o que ajudou o trabalho ser desempenhado com dedicação.

Ao Júlio Sergio Marchini que é um ídolo para mim e me ensinou que o amor na profissão contribui para que todos ao seu redor melhorem sempre.

Ao Wilson Salgado, Wanderley Pereira, Rosário, Vivian Suen, Ana Júlia e toda a equipe de enfermagem, médicos e do Centro de Medicina Genômica (CMG) que fizeram com que este projeto pudesse caminhar ao longo desses dois anos.

Aos meus amigos Hugo César, Fernando Almeida, Carolina Malek, Camila Brandão, Marcia, Luciana Martins pela amizade e diversão.

As voluntárias pela disponibilidade e compreensão que fizeram desse estudo possível.

A Freepik pela imagem utilizada na capa dessa dissertação.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento do meu projeto por meio de bolsa de mestrado (nº 2014/00669-0) e do auxílio à pesquisa regular (nº 2013/08916-4).

"Você não pode parar as ondas, mas você pode aprender a surfar".

Jon Kabat-Zinn

Resumo

RESUMO

QUINHONEIRO, D. C. G. **Análise da expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico em mulheres com obesidade grau III após suplementação de extrato de chá verde descafeinado**. 2016. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2016.

A obesidade surge como um distúrbio neuroendócrino, com atuação de fatores de risco ambientais e genéticos, e recentemente centenas de genes tem sido associados ao controle do peso corporal e metabolismo energético. Frente à alta incidência e prevalência de obesidade na população, empregam-se estratégias com a finalidade de elevar a eficácia de perda de peso, como por exemplo, o uso de compostos bioativos presentes nos alimentos, com destaque para 3-galato de epigallocatequina (GEGC) presente no chá verde. As dietas ricas em polifenóis apresentam efeitos antiobesogênicos, possivelmente por sua interação direta ou indireta com o tecido adiposo. O presente estudo teve como objetivo verificar a expressão de *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3* em tecido adiposo subcutâneo abdominal de mulheres com obesidade grau III antes e após oito semanas de suplementação com extrato de chá verde descafeinado e associar com variáveis antropométricas, taxa metabólica de repouso (TMR), oxidação de substratos e consumo alimentar. A amostra foi composta por 11 mulheres com obesidade grau III submetidas à suplementação de 450 mg de chá verde por oito semanas (grupo intervenção) e 10 mulheres eutróficas (grupo controle). Tratou-se de um estudo longitudinal e foram coletadas medidas antropométricas de peso e estatura para cálculo do Índice de Massa Corporal (IMC); circunferência abdominal (CA); composição corporal (massa livre de gordura e massa gorda) por bioimpedância elétrica; ingestão alimentar por recordatórios de 24h, TMR por calorimetria indireta e análise de expressão gênica por reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR). Após oito semanas de suplementação, o grupo intervenção não apresentou alterações nas variáveis antropométricas, de composição corporal, TMR e oxidação de substratos. Ao comparar o grupo controle e intervenção, observou-se no primeiro valores menores de IMC, CA, massa livre de gordura, massa gorda, TMR e oxidação de lipídios. Dos genes analisados, houve aumento da expressão de *UCP3* após o período de suplementação ($p=0,026$). As análises de correlação e regressão linear mostraram que as mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de chá verde que expressavam mais *UCP2* possuíam menor peso ($p=0,043$) e massa gorda ($p=0,045$). Ainda, às que ingeriam mais calorias por dia, exibiram maior expressão de *UCP2* ($p=0,045$). Conclui-se que a suplementação de extrato de chá verde descafeinado, por 8 semanas, em mulheres com obesidade grau III, não altera a expressão de *UCP1*, *UCP2*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3*, o que poderia explicar a manutenção das variáveis antropométricas, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos. Por outro lado, há o aumento da expressão de *UCP3* após a intervenção, sugerindo um possível mecanismo de adaptação desse gene atuando na manutenção do peso.

Palavras-chave: Obesidade. GEGC. Chá Verde. Expressão gênica.

ABSTRACT

QUINHONEIRO, D. C. G. **Analysis of gene expression related energy and lipid metabolism in women with obesity grade III after decaffeinated green tea extract supplementation.** 2016. 104 f. Dissertation (Master's degree) - Faculty of Medicine of Ribeirao Preto, University of São Paulo. Ribeirao Preto, 2016.

Obesity emerges as neuroendocrine disorder, with action of environmental and genetic risk factors, and recently hundreds of genes have been associated with management of body weight and energy metabolism. As obesity rates continue to climb in population, an increased number of strategies are employed in order to improve effectiveness of weight loss, such as use of bioactive compounds in foods, especially Epigallocatechin gallate (EGCG) present in green tea. Polyphenol-rich foods have anti-obesogenic effects, possibly by its direct or indirect interaction with adipose tissue. This study aimed to verify expression of *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* and *ADRB3* in abdominal subcutaneous adipose tissue of women with obesity grade III before and after eight weeks of supplementation with decaffeinated green tea extract and associate with anthropometric, metabolic rate (RMR), substrate oxidation and energy intake. The sample consisted of 11 women with obesity grade III submitted to supplementation of 450 mg of green tea for eight weeks (intervention group) and 10 women eutrophic (control group). This was a longitudinal study and were collected anthropometric measurements of weight and height to calculate body mass index (BMI); abdominal circumference (AC); body composition (fat-free mass and fat mass) by bioelectrical impedance analysis; energy intake by 24-hour dietary recalls; TMR by indirect calorimetry and gene expression analysis by real-time PCR (RT-qPCR). After eight weeks of supplementation, the intervention group showed no changes in anthropometric variables, body composition, TMR and substrate oxidation. When comparing control group and intervention, is noted that first had lower values of BMI, WC, fat-free mass, fat mass, RMR and oxidation of lipids. Genetic analysis show an increased expression of *UCP3* gene after the supplementation period ($p = 0.026$). The correlation and linear regression analysis revealed that women with obesity grade III before green tea supplementation that expressed more *UCP2* had lower weight ($p = 0.043$) and fat mass ($p = 0.045$). Still, those that had higher energy intake, exhibited increased expression of *UCP2* ($p = 0.045$). We conclude that the decaffeinated green tea extract supplementation for 8 weeks in women with obesity grade III, does not alter the expression of *UCP1*, *UCP2*, *PLIN1*, *PPARG2* and *ADRB3*, which could explain maintenance of anthropometric variables, composition body, resting metabolic rate and substrate oxidation. Moreover, there is increased *UCP3* expression after supplementation, suggesting a possible adjustment mechanism of this gene acting in weight management.

Keywords: Obesity. EGCG. Green tea. Gene expression.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Catequinas do chá verde	25
Figura 2- Fluxograma das pacientes selecionadas para o estudo.....	39
Figura 3- Delineamento experimental do grupo intervenção	40
Figura 4- Delineamento experimental do grupo controle	41
Figura 5- Aparelho de Bioimpedância Elétrica usado para análise da composição corporal	45
Figura 6- Avaliação da taxa metabólica de repouso de pacientes com obesidade grau III	46
Figura 7- Expressão relativa do gene <i>UCP1</i> em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,110$)	57
Figura 8- Expressão relativa do gene <i>UCP2</i> em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,477$)	57
Figura 9- Expressão relativa do gene <i>UCP3</i> em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,026$)	58
Figura 10- Expressão relativa do gene <i>PLIN1</i> em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,328$)	58
Figura 11- Expressão relativa do gene <i>PPARG2</i> em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,374$)	59
Figura 12- Expressão relativa do gene <i>ADRB3</i> em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,155$)	59
Figura 13- Correlação entre expressão do gene <i>UCP2</i> e peso (A); IMC: Índice de Massa Corporal (B); CA: circunferência abdominal (C); MLG: massa livre de gordura	

(D); MG: massa gorda (E); TMR ajustado pelo peso: taxa metabólica de repouso ajustado pelo peso (F) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de chá verde60

Figura 14- Correlação entre expressão do gene *PLIN* e peso (A); MLG: massa livre de gordura (B); MG: massa gorda (C); TMR ajustado pelo peso: taxa metabólica de repouso ajustado pelo peso (D) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde61

Figura 15- Correlação entre expressão do gene *PPARG2* e peso (A); MG: massa gorda (B); TMR ajustado pelo peso: taxa metabólica de repouso ajustado pelo peso (C) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde62

Figura 16- Correlação entre expressão do gene *UCP1* com a oxidação de lipídios em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde63

Figura 17- Correlação entre a ingestão de energia em quilocalorias por quilograma de peso com expressão do gene *UCP2* (A); *UCP3* (B); *PLIN1* (C) e *PPARG* (D) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde64

Figura 18- Correlação entre ingestão de carboidrato (CHO) em quilocalorias por quilograma de peso com expressão do gene *UCP2* (A) e *PLIN1* (B) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Equação de Jakicic, Wing e Lang (1998) para correção da massa livre de gordura de mulheres com obesidade	45
Quadro 2- Equações de Weir (1949) para estimativa da taxa metabólica de repouso e de Frayn (1983) para oxidação de glicose, lipídios e total extrapolada para 24h	47
Quadro 3- Valores de referência de indicadores bioquímicos utilizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo	47
Quadro 4- Sondas de hidrólise para os genes avaliados no presente estudo.....	49
Quadro 5- Sondas de hidrólise para os genes de referência selecionados para o presente estudo.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Quantificação dos compostos bioativos da <i>Camellia sinensis</i> (chá verde) para estudo clínico de mulheres com obesidade grau III	42
Tabela 2- Quantificação dos compostos bioativos da <i>Camellia sinensis</i> (chá verde) por lote do produto selecionado para este estudo.....	42
Tabela 3. Componentes do extrato de chá verde administrado diariamente durante o estudo.	43
Tabela 4- Prevalência de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemia, tabagismo, etilismo e histórico familiar de excesso de peso das pacientes com obesidade grau III (GI) e eutróficas (GC)	52
Tabela 5- Consumo alimentar de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0), após 4 semanas (T1) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e mulheres eutróficas (GC).....	53
Tabela 6- Antropometria, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substrato de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e eutróficas (GC) ...	54
Tabela 7- Taxa metabólica de repouso em termos absolutos e ajustados por peso e massa corporal magra de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e eutróficas (GC) ...	55
Tabela 8- Indicadores bioquímicos de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e eutróficas (GC)	55
Tabela 9- Biomarcadores hepáticos de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0), após 4 semanas (T1) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2).....	56
Tabela 10- Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão do gene <i>UCP2</i> no peso e massa gorda em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde	63
Tabela 11- Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente ingestão energética na expressão do gene <i>UCP2</i> em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde	66

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>ADRB1</i>	Beta-1-adrenoreceptor
<i>ADRB2</i>	Beta-2-adrenoreceptor
<i>ADRB3</i>	Beta-3-adrenoreceptor
ALT	Alanina amino-transferase
AMPc	Adenosina monofosfato-cíclico
AST	Aspartato amino-transferase
CA	Circunferência abdominal
cDNA	DNA complementar
cm	Centímetro
CI	Calorimetria indireta
CT	Colesterol total
COMT	Catecol-O-metiltransferase
DP	Desvio padrão
EC	(-)-epicatequina
EGC	(-)-epigallocatequina
EROS	Espécies reativas de oxigênio
ETA	Efeito térmico dos alimentos
g	Gramas
Gama GT	Gama-glutamilttransferase
GC	Grupo Controle
GEAF	Gasto energético de atividade física
GEC	(-)-3-galato de epicatequina
GED	Gasto energético diário
GEGC	3-galato de epigallocatequina
GI	Grupo intervenção

HCFMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo
HDL-c	Fração de colesterol de lipoproteína de alta densidade
IMC	Índice de massa corporal
Kcal	Quilocaloria
Kg	Quilograma
LDL-c	Fração de colesterol de lipoproteína de baixa densidade
MLG	Massa livre de gordura
MG	Massa gorda
m ²	Metros ao quadrado
OMS	Organização Mundial da Saúde
<i>PLIN1</i>	Perilipina1
<i>PLIN4</i>	Perilipina4
<i>PLIN5</i>	Perilipina5
<i>PPAR-alfa</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo alfa
<i>PPAR-beta</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo beta
<i>PPARG</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama
<i>PPARG1</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama1
<i>PPARG2</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama2
<i>PPARG3</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama3
<i>PPARs</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas
qPCR	PCR em tempo real quantitativa
RT – qPCR	Transcrição reversa por reação em cadeia da polimerase
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TG	Triglicerídeos
TMR	Taxa metabólica de repouso

<i>UCP</i>	Proteína desacopladora
<i>UCP1</i>	Proteína desacopladora 1
<i>UCP2</i>	Proteína desacopladora 2
<i>UCP3</i>	Proteína desacopladora 3
<i>UCP4</i>	Proteína desacopladora 4
<i>UCP5</i>	Proteína desacopladora 5

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	22
1.1.	Chá verde.....	23
1.2.	Taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos.....	26
1.3.	Genes relacionados à obesidade	28
1.3.1.	Proteínas desacopladoras (UCP1, UCP2 e UCP3)	28
1.3.2.	Perilipina 1 (PLIN1)	29
1.3.3.	Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama 2 (PPARG2) ..	30
1.3.4.	Receptores adrenérgicos β 3 (ADRB3)	31
2.	JUSTIFICATIVA	34
3.	OBJETIVO GERAL	36
3.1.	Objetivos específicos	36
4.	HIPÓTESE.....	36
5.	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	38
5.1.	Casuística	38
5.2.	Crerérios de inclusão	38
5.3.	Crerérios de não inclusão.....	38
5.4.	Crerérios de exclusão.....	39
5.5.	Delineamento do estudo	39
5.6.	Quantificação dos compostos bioativos do chá verde	41
5.7.	Suplementação de extrato de chá verde	43
5.8.	Questionário de hábitos de vida e histórico familiar	43
5.9.	Avaliação nutricional	43
5.9.1.	Consumo alimentar	43
5.9.2.	Antropometria.....	44
5.9.3.	Avaliação da Composição Corporal	44
5.10.	Avaliação da Taxa Metabólica de Repouso (TMR)	45
5.11.	Avaliação bioquímica	47
5.12.	Coleta do tecido adiposo.....	48
5.13.	Análise da Expressão Gênica	48
5.13.1.	Extração de RNA.....	48
5.13.2.	Transcrição reversa por reação em cadeia de polimerase – RT – PCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction) – Síntese de cDNA	49
5.13.3.	Análise de Expressão Gênica – PCR em tempo real (RT-qPCR)	49

5.13.4.	Controle endógeno.....	50
5.14.	Análise Estatística.....	50
6.	RESULTADOS	52
7.	DISCUSSÃO	68
8.	CONCLUSÃO.....	79
9.	REFERÊNCIAS	81
	APÊNDICES.....	95
	ANEXOS.....	103

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece a obesidade como um dos maiores desafios de saúde pública do século 21. Nos últimos trinta anos, houve um aumento na prevalência de sobrepeso e obesidade em países desenvolvidos e em desenvolvimento (NG et al., 2014). Em 2014, a realidade mundial era composta de 39% de adultos com excesso de peso e 13% obesidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2015); enquanto no cenário nacional, a frequência de excesso de peso foi de 52,5% e a obesidade de 17,9%, sem diferença entre gêneros. Essa frequência diminuiu com o aumento do nível de escolaridade do indivíduo (BRASIL, 2014).

A obesidade é classificada com base no Índice de Massa Corporal (IMC), sendo a 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 ≥ 40 kg/m² (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS), 2004). O aumento do IMC está associado à diminuição da qualidade e expectativa de vida e ainda com o acréscimo dos custos para os serviços de saúde (PI-SUNYER, 2009).

O IMC é um importante preditor da incidência de doenças e mortalidade, no entanto, embora esse método seja amplamente utilizado em estudos clínicos e epidemiológicos, é dotado de limitações como: utilização de pontos de cortes pré-definidos, não distinção entre raças, massa livre de gordura, massa gorda e localização da adiposidade (WILLIAMS et al., 2015).

Sabe-se que a obesidade contribui para o aumento da mortalidade e morbidade, além de ser fator de risco independente para as doenças cardiovasculares, incluindo infarto do miocárdio, angina pectoris, insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão arterial e acidente vascular cerebral (AVC) (KLEIN et al., 2004; MUST; MCKEOWN, 2000). Podem-se citar também outras comorbidades, como diabetes mellitus, câncer, doença da vesícula biliar, pancreatite aguda, esteato-hepatite não alcoólica (NASH) e complicações pulmonares (PI-SUNYER, 2009).

Tendo em vista a prevalência e o impacto dessa doença, há a necessidade de se compreender sua etiologia. Na perspectiva biomédica, a obesidade é criada pelo desbalanço energético, no qual a energia consumida é superior à energia dispendida (GREENER; DOUGLAS; VAN TEIJLINGEN, 2010). Já o modelo sócio-ecológico leva

em consideração o fator econômico, cultural e político como contribuintes importantes (KUMANYIKA et al., 2002; LAKE; TOWNSHEND, 2006).

Recentemente, fortaleceu a hipótese de que a obesidade é um distúrbio neuroendócrino, com atuação dos fatores de risco ambientais e genéticos. A literatura na área de genética molecular tem mostrado que a predisposição genética é a combinação de uma rede de efeitos de variantes poligênicas (HEBE BRAND; HINNEY, 2009; HEBE BRAND et al., 2003).

Desse modo, surge a obesidade como consequência de complexas interações entre inúmeras variáveis (FROOD et al., 2013). A literatura revela que essa condição emerge de mais de 100 variáveis e 300 interconexões (VANDENBROECK; GOOSSENS; CLEMENS, 2007), e tratá-la a partir de uma abordagem reducionista tem pouco efeito na diminuição das tendências e prevalências evidenciadas no cenário mundial (FROOD et al., 2013).

Frente às diferentes perspectivas sobre sua etiologia propõem-se tratamentos, sendo que a restrição da ingestão calórica e o exercício físico ainda continuam como pilares (BEHARY et al., 2015). Essa abordagem tem limitações, como a dificuldade de adesão em longo prazo (DANSINGER et al., 2005), uma vez que se observa o reganho de peso de 50% no primeiro ano e uma perda ponderal menor que 5% de dois a quatro anos (CURIONI; LOURENCO, 2005; DOUKETIS et al., 2005). A perda de peso resultante da restrição calórica, exercícios regulares, rede de apoio e modificações comportamentais podem ser insuficientes para pacientes com obesidade e comorbidades múltiplas (BEHARY et al., 2015).

Diante disso, empregam-se estratégias coadjuvantes na tentativa de aumentar a eficiência de perda peso como o uso de compostos bioativos presentes nos alimentos. As dietas ricas em polifenóis exibem efeitos antiobesogênicos, possivelmente por sua interação direta ou indireta com o tecido adiposo (WANG, S., et al., 2014). A literatura aponta relação inversa entre o consumo habitual de chá (predominantemente o chá verde) com a gordura corporal e circunferência abdominal (PHUNG et al., 2010; WU et al., 2003).

1.1. Chá verde

O hábito de consumir chá é antigo e lendas da China e Índia indicam que foi iniciado a cerca de 5.000 anos atrás (DUFRESNE; FARNWORTH, 2001). Há aproximadamente um século, a bebida chegava ao Brasil pelas mãos dos imigrantes

chineses, que introduziram os segredos do plantio, queima, manipulação e padronização do produto (ROHMER, 2002). Atualmente, é a segunda bebida mais consumida no mundo, depois da água (CHENG, 2004; VINSON, 2000).

O chá pode ser cultivado do nível do mar às montanhas altas, em regiões com alta umidade, temperaturas amenas e solos ácidos (GUTMAN; RYU, 1996; HARA et al., 1995). Os chás da planta *Camellia sinensis* que pertence à família *Theaceae*, gênero *Camellia* e espécie *sinensis* podem ser classificados em três tipos, dependendo do nível de fermentação ou oxidação: o chá verde, que não sofre fermentação durante o processamento, e deste modo, retém a cor original de suas folhas; o chá *oolong* que é parcialmente fermentado, resultando em um chá verde-preto; e o chá preto, totalmente fermentado, o que contribui para uma coloração escurecida, além de conferir sabor característico (CHENG, 2006; LEUNG et al., 2001; RUMPLER et al., 2001).

O chá verde é fabricado a partir das folhas secas de *Camellia sinensis*, e achados epidemiológicos evidenciam que quando consumido diariamente, se integra a um estilo de vida saudável e maior longevidade (SATO et al., 1989; SETIAWAN et al., 2001; SUEOKA et al., 2001; ZHANG et al., 2004). Seus constituintes predominantes correspondem em até 35% do peso seco, sendo estes os flavonoides, que são polifenóis presentes naturalmente em alimentos de origem vegetal. Quimicamente, os flavonoides são caracterizados por conter dois ou mais anéis aromáticos ligados a pelo menos uma hidroxila aromática e conectados com uma ponte de carbono (CLIFFORD, 2001). Os flavonoides encontrados no chá verde pertencem a três classes: flavonóis, flavonas e flavan-3-ols. Desses, 60 a 80% são flavan-3-ols, comumente conhecidas como catequinas (COOPER; MORRÉ; MORRÉ, 2005).

As catequinas são compostos incolores, hidrossolúveis que contribuem para o amargor e adstringência do chá verde (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997), sendo as quatro principais: (-)-epicatequina (EC), (-)-3-galato de epicatequina (GEC), (-)-epigallocatequina (EGC) e 3-galato de epigallocatequina (GEGC), e a última representa de 50 a 80% do total de catequinas (HARBOWY et al., 1997; HASLER, 1998, 2002; KHAN; MUKHTAR, 2007) (Figura 1).

Fonte: Lamarão e Fialho (2009).

Figura 1- Catequinas do chá verde

A absorção das catequinas ocorre no intestino, no entanto, estudos revelam grande variação da farmacocinética entre os indivíduos (CHOW et al., 2005; VAN AMELSVOORT et al., 2001). A biodisponibilidade depende da forma de administração e as cápsulas se mostram mais biodisponíveis quando comparadas com o chá em infusão (VAN AMELSVOORT et al., 2001). Outro fator importante é a presença de alimentos que parece atenuar a absorção das catequinas para a circulação (CHOW et al., 2005; KHAN; MUKHTAR, 2007),

O restante sólido do chá verde inclui cafeína, tanino, teaflavinas, tearubiginas, quercetina e outros compostos fenólicos como o ácido gálico e ácido clorogênico. A infusão de 1 g de folha de chá verde com 100 ml de água, por 3 minutos, fornece cerca de 40 a 45 mg de catequinas (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997), já a cafeína varia de 10 a 80 mg por xícara (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997; BARTELS; MILLER, 2003), quantidade considerável quando comparada com 60 ml de café, que dependendo da marca, do tipo e da forma de preparo, pode conter até 73 mg de cafeína (BALENTINE; WISEMAN; BOUWENS, 1997; CAMARGO; TOLEDO, 1998).

O potencial antiobesôgeno das catequinas do chá verde, particularmente GEGC, tem sido evidenciado em estudos *in vitro*, *in vivo* e clínicos. A utilização de GEGC e extratos de chá verde *in vitro* demonstrou inibição da diferenciação de pré-adipócitos, redução da proliferação de adipócitos, supressão da lipogênese, promoção da lipólise e β -oxidação de ácidos graxos (CHAN et al., 2011; KIM et al., 2010; KU et al., 2012).

As mudanças fisiológicas relacionadas ao impacto do chá verde na composição corporal são acompanhadas pelo aumento de expressão de diversos genes, como por exemplo, aqueles expressos no tecido adiposo e fígado, envolvidos no metabolismo de lipídios (CHEN et al., 2009). Murase et al. (2002) propuseram que esse efeito é atribuído às catequinas, por aumentarem a expressão gênica das enzimas lipolíticas. Outro estudo encontrou que a administração de chá verde por seis semanas *in vivo* inibiu a expressão de genes que regulam a lipogênese (SHRESTHA et al., 2009).

Somado a esses efeitos, há, ainda, fortes evidências dos benefícios do chá verde em pacientes com hipertensão arterial secundária à obesidade, em parâmetros como pressão sanguínea, metabolismo de carboidrato, perfil lipídico e estresse oxidativo (SULIBURSKA et al., 2012). Outras áreas de interesse emergem e mostram sua relação com a prevenção de câncer (KAVANAGH et al., 2001), inflamação, angiogênese (OAK; EL BEDOUI; SCHINI-KERTH, 2005; RODRIGUEZ et al., 2006; SARTIPPOUR et al., 2002) e oxidação (OSADA et al., 2001).

Apesar do impacto positivo apresentado, um questionamento sobre o uso do chá verde concentra-se no seu possível potencial hepatotóxico (MAZZANTI et al., 2009). No entanto, a literatura mostra dados conflitantes, uma vez que Sarma et al. (2008) averiguaram que de 34 casos analisados, 27 mostraram possível causalidade entre o consumo de chá verde e o dano hepático. Já Mielgo-Ayuso et al. (2014) observaram que a suplementação de GEGC durante 12 semanas não causou efeitos adversos nas enzimas hepáticas de mulheres com obesidade.

1.2. Taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos

Definir o gasto energético diário (GED) de um paciente sempre foi um desafio na área da nutrição. A utilização de equações preditivas pode subestimar ou superestimar esse gasto, impactando diretamente na evolução do tratamento do indivíduo (FRANKENFIELD; ASHCRAFT, 2011).

O GED consiste na soma de três componentes: a taxa metabólica de repouso (TMR), o efeito térmico dos alimentos (ETA) e o gasto energético de atividade física (GEAF) (SCHNEIDER; MEYER, 2007; SUEN et al., 2003). A TMR é definida como a quantidade de energia necessária para o corpo humano manter os processos fisiológicos normais durante o repouso e representa de 60 a 75% do GED (FONSECA; DUARTE, 2008). O ETA varia de 5 a 15% e associa-se ao gasto de energia pós-prandial envolvendo a digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes, além de sofrer influência da quantidade e natureza do nutriente ingerido (JÉQUIER; SCHUTZ, 2004; MELO; TIRAPEGUI; RIBEIRO, 2008). Já o GEAF é o componente com maior variação do GED, de 15 a 30%, e inclui o gasto energético relativo ao trabalho físico, à atividade muscular e ao exercício físico (SCHNEIDER; MEYER, 2007).

Na prática, a TMR pode ser estimada por meio de equações preditivas ou medida pela calorimetria indireta (CI), a qual consiste em um método não invasivo, seguro e eficaz para determinar as necessidades nutricionais e a taxa de utilização dos substratos energéticos glicídicos e lipídicos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO PARENTERAL E ENTERAL; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CLÍNICA MÉDICA, 2009; SUEN; UNAMUNO; MARCHINI, 2003). A CI mede a TMR, por meio das trocas gasosas do organismo com o ambiente, ou seja, do volume de gás carbônico produzido (VCO_2) e do volume de oxigênio consumido (VO_2) durante o ciclo respiratório (SIMONSON; DEFRONZO, 1990).

Tendo em vista as definições apresentadas e a contribuição de cada elemento na composição final do GED, emergem diferentes estratégias com o objetivo de aumentar o gasto energético, fazendo deste um aliado para a perda de peso. Dessa maneira, há um interesse crescente em componentes termogênicos como os extratos de plantas utilizados por seu potencial em modular a liberação e atividades das catecolaminas (DULLOO, 1998).

Segundo Dulloo et al. (1999), o chá verde foi capaz de aumentar em 4% a energia dispendida em 24 horas e diminuir o quociente respiratório em adultos após sua suplementação. As catequinas presentes no chá verde podem inibir a catecol-O-metiltransferase (COMT), enzima responsável pela degradação de norepinefrina, aumentando assim sua concentração nas junções sinápticas e sua interação com os adrenoreceptores (DULLOO et al., 1999). Devido ao importante papel do sistema

nervoso simpático e da norepinefrina no controle da termogênese e oxidação de gordura, a inibição da COMT secundária a ingestão de catequinas, resulta em aumento do efeito da norepinefrina, potencializando a oxidação de lipídios pela ativação da termogênese (CHEN et al., 2005).

1.3. Genes relacionados à obesidade

O peso corporal é determinado pela combinação de fatores genéticos, ambientais e os relacionados com o estilo de vida, como a dieta, atividade física e a interação entre eles (ORDOVAS; ROBERTSON; CLEIRIGH, 2011; RAZQUIN; MARTI; MARTINEZ, 2011).

A hereditariedade da regulação do peso corporal é estudada desde o início do século 20, sendo a descoberta do gene *ob* e da leptina de suma importância para o progresso do conhecimento do componente genético (FRIEDMAN; HALAAS, 1998). Estudos sobre gêmeos, famílias e adoção revelaram que o fator genético pode ser responsável por 40 a 70% da variação de IMC na população (CHOQUET; MEYRE, 2011).

Segundo Deram e Villares (2009), mais de 600 genes foram relatados na participação do controle do peso corporal e regulação do metabolismo energético. Dentre estes, destacam-se os genes *ADRB3* (beta-3-adrenoreceptor), *UCPs* (proteínas desacopladoras), *PLIN* (perilipina) e *PPARG2* (receptor ativado por proliferadores de peroxissoma tipo gama 2).

1.3.1. Proteínas desacopladoras (UCP1, UCP2 e UCP3)

As proteínas desacopladoras (UCPs) formam uma subfamília dentro da família de carreadores aniônicos mitocondriais. Localizam-se na membrana mitocondrial interna e catalisam o fluxo de prótons, que dissipa o gradiente eletroquímico gerado na cadeia respiratória (SLUSE et al., 2006). Essa dissipação de energia pode ter inúmeras funções: produção de calor; regulação do metabolismo de ácidos graxos livres e processos ATP-dependentes; e a diminuição da formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) (AZZU; BRAND, 2010; JEZEK, 2002; SOUZA et al., 2011).

As UCPs começaram a ser descritas na década de 1970, com a caracterização da UCP1 (RICQUIER; KADER, 1976) e mais tarde, entre 1997 a 2000, foram descobertas mais quatro UCPs homólogas. A UCP2 e a UCP3 apresentam 59% e

57% de identidade com a UCP1, respectivamente, e 73% de identidade quando comparadas entre si (KRAUSS; ZHANG; LOWELL, 2005); já as UCP4 e UCP5 são altamente expressas no sistema nervoso central, apresentando uma baixa identidade com a UCP1 (SANCHIS et al., 1998).

O gene *UCP1* está localizado no cromossomo humano 4, na região 4q28-q31, e sua proteína correspondente é expressa principalmente no tecido adiposo marrom (BRONDANI et al., 2012), mas também encontrada no tecido adiposo branco, células da retina e ilhotas pancreáticas (CUI et al., 2006; SALE et al., 2007). A UCP1 tem papel importante no balanço energético, metabólico, termogênese induzida pelo frio e pela dieta e diminuição da produção de EROS na mitocôndria (AZZU; BRAND, 2010).

O gene *UCP2* e *UCP3* estão localizados no cromossomo humano 11, regiões 11q13 e 11q13.4, respectivamente (JIA et al., 2009). A *UCP2* é expressa no tecido adiposo, músculo esquelético, ilhas pancreáticas e sistema nervoso central e desempenha papel no metabolismo de lipídios, balanço energético e regulação do peso corporal (DALGAARD et al., 2003; SALEH; WHEELER; CHAN, 2002).

Já *UCP3* é expressa no tecido adiposo marrom e musculo esquelético (DEPIERI et al., 2004) e a diminuição da função ou da expressão da *UCP3* diminui o gasto energético e aumenta o armazenamento de energia na forma de gordura (SALTZMAN; ROBERTS, 1995). Ao contrário, o aumento da expressão está relacionado ao aumento da taxa metabólica durante o sono e a diminuição do IMC (SCHRAUWEN et al., 1999). Desse modo, a modulação da expressão das *UCPs* representam novas estratégias no combate à obesidade e doenças associadas (DIANO; HORVATH, 2012; TODA; DIANO, 2014).

1.3.2. Perilipina 1 (PLIN1)

A família das perilipinas, localizadas na superfície dos adipócitos (BRASAEMLE et al., 2000), desempenham um papel chave na mobilização de triglicerídeos e atuam na lipólise, facilitando a formação e o armazenamento lipídico (DERAM et al., 2008).

Ensaios clínicos relacionados com o gene *PLIN*, revelaram sua expressão elevada em indivíduos com obesidade, caracterizando um mecanismo compensatório para limitar o processo de lipólise basal, favorecendo o desenvolvimento dessa doença. Ainda o aumento da expressão do *PLIN* associou-

se com medidas antropométricas, metabólicas e porcentagem de gordura corporal (KERN et al., 2004).

Essas proteínas são expressas em adipócitos e células esteroidogênicas (NISHIU; TANAKA; NAKAMURA, 1998). Atualmente são conhecidas cinco proteínas dessa família nomeadas de perilipina1 [gene *PLIN1*] até perilipina 5 [gene *PLIN5*]. A perilipina 1 (*PLIN1*) foi identificada há mais 20 anos como a proteína mais abundante na superfície das gotículas de gordura nos adipócitos (GREENBERG et al., 1991) e seu gene codificante junto ao *PLIN4* possui variabilidade genética associada à obesidade (SMITH; ORDOVAS, 2012).

O gene *PLIN1*, em humanos, está localizado no cromossomo 15, na região 15q26 (NISHIU; TANAKA; NAKAMURA, 1998), e sua proteína correspondente tem papel importante no metabolismo energético, com a habilidade de controlar o acesso aos estoques de triglicerídeos dos adipócitos, para suprir grande parte dos tecidos com energia. Dependendo do estado energético do organismo, esta proteína pode limitar o acesso das lipases aos estoques de triglicerídeos (estado alimentado), ou, em jejum, estimular hormonalmente a *PLIN1* a qual é fosforilada, o que leva a modificação conformacional com consequente aumento da lipólise (BRASAEMLE et al., 2000; JAWORSKI et al., 2007).

1.3.3. Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama 2 (PPARG2)

Os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) são fatores de transcrição da família de receptores nucleares (EVANS; BARISH; WANG, 2004), pertencentes à superfamília de receptores esteroides que inclui os receptores para hormônios tireoidianos, retinóides, 1,25-diidroxi-vitamina D e hormônios esteróides (BERGER; MOLLER, 2002). Os PPARs estão associados ao controle da expressão de uma rede de genes envolvidos na adipogênese e lipogênese (AHMADIAN et al., 2013), além do metabolismo de lipídios, inflamação e manutenção do mecanismo homeostático (EVANS; BARISH; WANG, 2004).

O PPAR-alfa foi o primeiro a ser identificado no começo dos anos 1990, como sensor de gordura, e seu nome foi devido a habilidade de se ligar a compostos químicos conhecidos por induzir a proliferação de peroxissoma, organelas que contribuem para oxidação de ácidos graxos (ISSEMAN; GREEN, 1990). Estudos subsequentes identificaram mais dois receptores: PPAR-gama (conhecido também

como PPARG) e PPAR-beta (DREYER et al., 1992; KLIEWER et al., 1994). Quanto à expressão, o *PPAR-alfa* e *PPARG* são expressos predominantemente no fígado e tecido adiposo, respectivamente, enquanto o *PPAR-beta* é expresso em todo o corpo, mas em níveis baixos no fígado (EVANS; BARISH; WANG, 2004). Em suma, o PPAR-alfa e PPAR-beta facilitam a combustão de energia enquanto o PPARG contribui para o armazenamento de energia por aumentar a adipogênese (RAO et al., 2002).

O PPARG tem atraído interesse significativo no âmbito científico e clínico por seu papel no metabolismo de macronutrientes, uma vez que protege o tecido não adiposo contra a sobrecarga excessiva de lipídios e mantém a função normal dos órgãos (fígado e tecido muscular). O PPARG ativado em adipócitos garante a secreção equilibrada de adipocitocinas (adiponectina e leptina) que são mediadores da ação de insulina nos tecidos periféricos e, em consequência, mantem a sensibilidade à insulina (KINTSCHER; LAW, 2005).

O gene *PPARG*, localizado no cromossomo humano 3, na região 3p25, apresenta 3 isoformas: *PPARG1*, *PPARG2* e *PPARG3* (MONSALVE et al., 2013). O *PPARG1* é expresso em uma ampla variedade de tecidos, o *PPARG2* é limitado principalmente ao tecido adiposo, e por sua vez, o *PPARG3* tem expressão restrita a macrófagos e intestino grosso (TAVARES; HIRATA; HIRATA, 2007).

O *PPARG2* é o ativador de transcrição mais potente (FEIGE et al., 2006) sendo regulado pela ingestão de nutrientes (REN et al., 2002). Um estudo *in vivo* demonstrou que o PPARG2 previne a lipotoxicidade por diferentes mecanismos, incluindo promoção à 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 (MEDINA-GOMEZ et al., 2007).

1.3.4. Receptores adrenérgicos β 3 (ADRB3)

O sistema adrenérgico exerce atividade crucial na regulação do balanço energético pela estimulação da termogênese e mobilização lipídica no tecido adiposo, por meio da ação das catecolaminas (epinefrina e noraepinefrina) (INSEL, 1996; SCOFIELD; DEUPREE; BYLUND, 2002).

Baseado nas evidências moleculares e farmacológicas esses receptores são classificados em três tipos: alfa-1, alfa-2 e beta (BYLUND, 1988). Os receptores

beta-1 (ADRB1) e beta-2 (ADRB2) foram identificados em meados de 1967 (LANDS et al., 1967) e o beta-3 (ADRB3) somente na década 1980 (BOND; CLARKE, 1988).

O gene *ADRB3* está localizado no cromossomo humano 8, na região 8p11.23 e pertence a uma classe de receptores acoplados à proteína G (URSINO et al., 2009). Sua maior expressão é descrita no tecido adiposo branco e marrom, no entanto, recentemente a literatura reportou expressão no miocárdio (ROZEC; GAUTHIER, 2006), bexiga urinária (IGAWA et al., 1999), trato gastrointestinal (DE PONTI et al., 1999) e outros tecidos.

Por estar fortemente associado à lipólise e termogênese (URSINO et al., 2009), o polimorfismo do *ADRB3* pode contribuir diretamente, dificultando a perda de peso pela intervenção comportamental (SHIWAKU et al., 2003). Em relação à expressão gênica do *ADRB3*, estudos revelam que sua variação também dificulta a perda de peso (MASUO & LAMBERT, 2011; SHIWAKU et al., 2003). Vale ressaltar que são escassos os dados sobre a expressão do gene em questão, no tecido adiposo subcutâneo, e a sua associação com a obesidade.

Apesar das evidências mencionadas, ainda não há consenso na literatura sobre como a expressão de determinados genes no tecido adiposo influencia o gasto energético de adultos com obesidade. O conhecimento da variação de expressão gênica, possivelmente auxiliará na compreensão das razões que explicam por que alguns indivíduos são mais propensos a ganhar peso do que outros, nas mesmas condições ambientais (HESKETH et al., 2006).

O presente estudo foi desenhado para investigar, dentre outros, os efeitos da suplementação de chá verde na variação do peso corporal e os mecanismos moleculares incluindo os níveis de expressão de genes envolvidos no metabolismo energético e lipídico.

Justificativa

2. JUSTIFICATIVA

Os achados epidemiológicos revelam dados alarmantes sobre a prevalência de excesso de peso na população mundial, e ainda tem se demonstrado que essa doença além de sua etiologia complexa está relacionada com inúmeros desfechos tanto no campo financeiro, com o aumento dos gastos públicos, quanto no psicológico, ligados à discriminação laboral e social. Ressalta-se que o pilar do tratamento para a obesidade consiste na restrição energética e exercício físico, combinação que tem sido pouco efetiva uma vez que nos últimos trinta anos o números de indivíduos acometidos por essa doença aumentou drasticamente em países desenvolvido e em desenvolvimento. Dessa forma, compreender as respostas desencadeadas pelo consumo de chá verde e associá-las a possíveis variações de expressão em genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico, poderá contribuir para elucidar o efeito antiobesogênico das catequias do chá verde e possivelmente fundamentar sua utilização como agente sinérgico na perda de peso.

Objetivos e Hipótese

3. OBJETIVO GERAL

Verificar a expressão dos genes *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3* em tecido adiposo subcutâneo abdominal e associar com variáveis clínicas, antropométricas, dietéticas e taxa metabólica de repouso em indivíduos com obesidade grau III antes e após suplementação de chá verde descafeinado durante 8 semanas.

3.1. Objetivos específicos

- Determinar o efeito da suplementação de chá verde nas variações de peso e circunferência abdominal;
- Mensurar o efeito da suplementação de chá verde na taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos;
- Verificar o efeito da suplementação de chá verde nos indicadores bioquímicos;
- Detectar o efeito da suplementação de chá verde na expressão dos genes *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3*;
- Analisar a contribuição da expressão dos genes *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3* na taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos;
- Associar os parâmetros antropométricos e de composição corporal com a expressão dos genes *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3*;
- Relacionar o consumo alimentar com a expressão dos genes *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3*.

4. HIPÓTESE

A hipótese deste estudo sugere que a suplementação de extrato de chá verde descafeinado durante 8 semanas é capaz de desencadear perda de peso e alterações na taxa metabólica de repouso e oxidação de substrato em mulheres com obesidade grau III e impactar na expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico.

Casuística e Métodos

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1. Casuística

Foram selecionados para o estudo 21 indivíduos, de população miscigenada (PENA et al., 2011) e distribuídos em dois grupos. O Grupo Intervenção (GI) composto por 11 mulheres com obesidade grau III ($\text{IMC} \geq 40 \text{ kg/m}^2$), suplementadas com extrato de chá verde descafeinado. Enquanto o Grupo Controle (GC) foi constituído por 10 mulheres eutróficas (IMC entre $18,5 \text{ kg/m}^2$ a $24,9 \text{ kg/m}^2$). Todas as participantes apresentavam idade entre 18 a 60 anos.

As voluntárias foram esclarecidas a respeito do protocolo da pesquisa e incluídas somente aquelas que concordaram com a sua realização. A pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - HCFMRP-USP (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética - CAAE: 30247414.6.0000.5440) (Apêndice A, B, C).

5.2. Critérios de inclusão

Todas as mulheres selecionadas apresentavam índice de massa corporal de acordo com o previamente estabelecido. O GC foi proveniente do Hospital Estadual que por indicação médica realizaram procedimento cirúrgico de hérnia umbilical (incisional ou epigástrica) ou colelitíase sem colicistite aguda.

5.3. Critérios de não inclusão

Para ambos os grupos não foram incluídas as mulheres gestantes ou lactantes; que apresentavam diabetes, o hábito de fumar, comportamento alcoolista, doenças que alterassem a taxa metabólica de repouso (como hipotireoidismo ou hipertireoidismo); além das pacientes que realizaram cirurgia bariátrica; estavam em período de modificação do comportamento alimentar e hábitos de vida; utilizavam medicamentos ou suplementos que alterassem a taxa metabólica de repouso e em uso contínuo de medicamentos, com exceção para anti-hipertensivos e anticoncepcionais. Ainda, para o grupo intervenção não foram incluídos os indivíduos com alterações nos biomarcadores hepáticos: aspartato amino-transferase (AST), alanina amino-transferase (ALT), gama-glutamyltransferase (Gama GT) e fosfatase alcalina.

5.4. Critérios de exclusão

Durante o andamento do estudo foram excluídas as mulheres do GI que não seguiram adequadamente o protocolo de suplementação ou aquelas que engravidaram.

A Figura 2 mostra o fluxograma de seleção das pacientes do grupo intervenção.

Figura 2- Fluxograma das pacientes selecionadas para o estudo

5.5. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo intervencional de caráter longitudinal prospectivo, não randomizado, e a coleta de dados aconteceu em três etapas no GI (T0, T1 e T2) (Figura 3) e uma única etapa no GC (Figura 4).

No GI, antes do início da suplementação de chá verde (T0) foram coletados dados de consumo alimentar; antropométricos; de composição corporal; calorimetria indireta; questionário relacionado aos hábitos de vida (antecedente pessoal e histórico familiar de doenças crônicas); coleta de sangue e tecido adiposo subcutâneo; além disso, foi entregue as participantes 56 cápsulas de chá verde,

quantidade necessária para 28 dias de suplementação e a tabela de controle diário de ingestão dessas cápsulas.

Após quatro semanas de suplementação (T1) realizou-se coleta de sangue periférico e do consumo alimentar. Ainda, foram entregues mais 56 cápsulas necessárias para a conclusão do estudo e uma nova tabela de controle diário de ingestão do chá verde.

Por fim, ao final de 8 semanas de suplementação (T2), as pacientes foram avaliadas, repetindo as coletas realizadas no T0.

Todas as avaliações foram conduzidas na Unidade Metabólica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, por nutricionista e enfermeiros, exceto a coleta de tecido adiposo subcutâneo abdominal, que foi realizada em sala adequada e por médico cirurgião experiente.

Grupo Intervenção (GI) - suplementado com extrato de chá verde descafeinado

¥ Consumo alimentar; antropometria; composição corporal; calorimetria indireta; questionário de hábitos de vida e coleta de sangue e tecido adiposo

≈ Entrega de cápsulas de chá verde e tabela de controle diário de ingestão

Coleta de sangue e consumo alimentar

Figura 3- Delineamento experimental do grupo intervenção

Figura 4- Delineamento experimental do grupo controle

5.6. Quantificação dos compostos bioativos do chá verde

Para selecionar as cápsulas de chá verde que seriam entregues para as pacientes do GI, foram realizadas análises bioquímicas em quatro extratos de chá verde comercial, sendo dois de origem nacional e dois internacional. Para cada produto, quantificaram-se 10 cápsulas dos seguintes compostos químicos: (-)-3-galato de epicatequina (GEC), 3-galato de epigallocatequina (GEGC) e cafeína (CA), por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando o cromatógrafo Shimadzu Prominence, detector espectrofotométrico Photodiodo Array mod. SPD-M10A, coluna de fase reversa C-18 Shimadzu (250 x 4,6 mm d.i., 5 µm). Observaram-se diferenças estatisticamente significantes na concentração de GEGC e GEC entre todos os produtos, enquanto a cafeína apresentou diferença entre os produtos, exceto quando comparamos o produto 2 com o produto 4 (Tabela 1).

Tabela 1- Quantificação dos compostos bioativos da *Camellia sinensis* (chá verde) para estudo clínico de mulheres com obesidade grau III

Variáveis	Produto 1 (Nacional) M±DP	Produto 2 (Nacional) M±DP	Produto 3 (Internacional) M±DP	Produto 4 (Internacional) M±DP
GEGC (mg)	31,8±1,22	10,14±0,14 ^a	38,35±2,03 ^{a,b}	243,0±8,38 ^{a,b,c}
GEC (mg)	8,25±0,32	2,81±0,04 ^a	11,16±0,59 ^{a,b}	52,67±1,81 ^{a,b,c}
Cafeína (mg)	15,14±0,58	4,27±0,59 ^a	24,06±1,27 ^{a,b}	3,67±0,13 ^{a,c}

M: média; DP: desvio padrão; GEGC: 3-galato de epigallocatequina; GEC: (-)-3-galato de epicatequina; a: $p < 0,05$ em relação ao Produto 1; b: $p < 0,05$ em relação ao Produto 2; c: $p < 0,05$ em relação ao Produto 3.

Ao término das análises, optou-se pela marca Solaray®, a qual é descafeinada e fornece em média 486 mg de GEGC a cada duas cápsulas. Dessa forma, apenas duas cápsulas diárias atingem a dosagem proposta no estudo, enquanto para as outras marcas seriam necessárias até 50 cápsulas para chegar à mesma concentração. Após a importação de todo o chá verde para o estudo, fez-se nova quantificação para comprovar que não havia diferença de GEGC, GEC e CA entre os lotes. Observou-se que lotes utilizados no presente estudo forneciam 225,3±5,3 mg de GEGC, 42,8±3,6 mg de GEC e 2,9±0,74 mg cafeína por cápsula (Tabela 2).

Tabela 2- Quantificação dos compostos bioativos da *Camellia sinensis* (chá verde) por lote do produto selecionado para este estudo

Variáveis	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6
GEGC (mg)	229	234,4	222,7	223,7	221,15	221,15
GEC (mg)	46,5	48,3	40,35	40,8	40,3	40,75
Cafeína (mg)	4,25	3,4	2,4	2,55	2,45	2,55

GEGC: 3-galato de epigallocatequina; GEC: (-)-3-galato de epicatequina

Na tabela 3 constam as informações do extrato de chá verde administrado neste estudo.

Tabela 3. Componentes do extrato de chá verde administrado diariamente durante o estudo.

Variáveis	M±DP
GEGC (mg)	450,7±10,6
GEC (mg)	85,7±7,2
Cafeína (mg)	5,9±1,5

GEGC: 3-galato de epigallocatequina; GEC: (-)-3-galato de epicatequina

5.7. Suplementação de extrato de chá verde

Cada participante do grupo intervenção recebeu no T0, 56 cápsulas de chá verde descafeinado da marca Solaray®. Foi orientado consumo em jejum, no período da manhã de duas cápsulas, além disso, anotar diariamente na tabela de controle os seguintes dados: data, horário, número de cápsulas ingeridas e possíveis observações (Apêndice D). No retorno, após quatro semanas de suplementação, foram entregues mais 56 cápsulas, totalizando 108 cápsulas.

Após o início da suplementação, semanalmente era feito o contato telefônico com a voluntária, a qual foi questionada quanto à ingestão das cápsulas e possíveis observações. Vale ressaltar que as participantes foram orientadas a não alterar o padrão alimentar, nível de atividade física e incluir ou excluir qualquer atividade ou comportamento que pudesse impactar na perda ou ganho de peso.

5.8. Questionário de hábitos de vida e histórico familiar

Foi aplicado um questionário no grupo GI antes e após 8 semanas de suplementação com extrato de chá verde e no GC antes do procedimento cirúrgico, contendo informações sobre hábitos etilistas e tabagistas, presença de comorbidades como diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensão arterial, histórico familiar de excesso de peso e presença de doença cardiovascular.

5.9. Avaliação nutricional

5.9.1. Consumo alimentar

A avaliação do consumo alimentar do GI foi realizada por meio da coleta de nove Inquéritos de Recordatório de 24 horas (IR24 h), sendo três em cada momento: antes do início do protocolo de suplementação de chá verde (T0), após quatro

semanas de suplementação (T1) e ao final do estudo (T2). Já no grupo controle, foram coletados três IR24 h. Para análise dos dados, foi utilizado o software *Dietwin®* e os resultados apresentando como ingestão energética diária, macronutrientes em gramas e porcentagem correspondente ao valor calórico total (VCT).

5.9.2. Antropometria

Para avaliação antropométrica foram utilizados os indicadores: peso, estatura, IMC e circunferência abdominal (CA).

Os pacientes foram pesados em balança digital da marca Filizola® do tipo plataforma, com capacidade para 300 kg e precisão de 0,2 kg. Para medida da estatura foi utilizada haste vertical com graduação de 0,5 cm. O IMC foi obtido a partir da fórmula: $IMC = P/A^2$, onde P é o peso em quilogramas e A é a estatura em metros. A classificação da obesidade foi realizada com adoção dos critérios Organização Mundial de Saúde (OMS, 2004). A CA foi medida passando-se uma fita métrica inextensível com graduação de 0,1 mm na maior circunferência em torno da cicatriz umbilical. Valores de CA ≥ 80 cm foram considerados alterados conforme critérios propostos pela Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (ABESO, 2009).

5.9.3. Avaliação da Composição Corporal

Para análise da composição corporal foi utilizado aparelho de Bioimpedância Elétrica modelo *Quantum BIA 101 Q – RJL System*. O exame foi realizado de acordo com as seguintes recomendações: não estar no período de menstruação, após seis horas de jejum, com a bexiga urinária vazia, 24 horas sem o consumo de bebidas cafeinadas e 48 horas sem a ingestão de bebidas alcoólicas. As pacientes foram orientadas a deitar com as pernas afastadas e braços em paralelo afastados do corpo. De acordo com a descrição técnica, quatro eletrodos adesivos foram colocados na mão e no pé: um na superfície dorsal do punho direito entre os ossos ulnar e rádio; um no terceiro metacarpo; um na superfície anterior do tornozelo direito entre as porções proeminentes dos ossos; e um 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 5).

Figura 5- Aparelho de Bioimpedância Elétrica usado para análise da composição corporal

Os valores de resistência e reactância foram colocados em fórmulas de composição corporal específicas para indivíduos com obesidade, obtendo-se assim, os valores de massa livre de gordura (MLG) (JAKICIC; WING; LANG, 1998). Para obtenção dos valores de massa gorda (MG), foi subtraída a quantidade de MLG (kg) do peso total (kg). A fórmula para o cálculo da MLG é apresentada no Quadro 1.

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

Est: estatura (cm); R: resistência (ohm); P: peso (kg).

Quadro 1- Equação de Jakicic, Wing e Lang (1998) para correção da massa livre de gordura de mulheres com obesidade

5.10. Avaliação da Taxa Metabólica de Repouso (TMR)

A TMR e as variáveis de oxidação de substratos foram determinadas pela medida do oxigênio consumido (O_2) e dióxido de carbono produzido (CO_2) utilizando

o aparelho *QUARK-RMR* (COSMED, Roma, Itália). O aparelho foi automaticamente calibrado com concentrações de gases conhecidas (17% O₂ e 5% CO₂) conforme especificações do fabricante.

A TMR foi coletada de acordo com condições adequadas: temperatura ambiente controlada entre 21 e 24°C, baixa luminosidade e sem ruídos. O consumo de oxigênio (VO₂) em litro por minuto (l/min) e a produção de gás carbônico (VCO₂) em l/min foram medidos durante 30 minutos, sendo que os dez primeiros minutos foram descartados até o indivíduo atingir *steady state*, permanecendo em decúbito dorsal e acordado durante toda avaliação (Figura 6).

Os pacientes foram orientados previamente para que permanecesse em jejum de seis a oito horas antes da coleta, além de não realizar qualquer prática de atividade física um dia antes do exame. O modelo matemático para estimativa da taxa metabólica de repouso (WEIR, 1949) e oxidação de glicose, lipídio e total (FRAYN, 1983) são apresentadas no Quadro 2.

Figura 6- Avaliação da taxa metabólica de repouso de pacientes com obesidade grau III

Taxa metabólica de repouso (kcal/dia): $[(3,941 \times Vo_2) + (1,106 \times Vco_2)] \times 1440$
Taxa de oxidação de glicose (g/dia): $[(4,55 \times Vco_2) - (3,21 \times Vo_2)] \times 1440$
Taxa de oxidação de lipídios (g/dia): $[(1,67 \times Vo_2) - (1,67 \times Vco_2)] \times 1440$
Taxa de oxidação total (g/dia): Taxa de oxidação de glicose + taxa de oxidação de lipídios

Vo_2 : volume de oxigênio; Vco_2 : volume de gás carbônico; 1440: minutos correspondente à 24h.

Quadro 2- Equações de Weir (1949) para estimativa da taxa metabólica de repouso e de Frayn (1983) para oxidação de glicose, lipídios e total extrapolada para 24h

5.11. Avaliação bioquímica

Para o GI, foram realizadas análises antes da suplementação de chá verde (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação (T2), dos seguintes indicadores bioquímicos: glicemia de jejum, colesterol total (CT), fração de colesterol de lipoproteína de alta (HDL-c) e baixa densidade (LDL-c) e triglicerídeos (TG). No GC as análises das variáveis acima foram realizadas em um único momento.

O acompanhamento da função hepática durante o período de suplementação de chá verde foi realizado por meio da avaliação dos biomarcadores hepáticos: AST, ALT, Gama GT e fosfatase alcalina em três momentos: T0, após 4 semanas de suplementação (T1) e T2. Os métodos de dosagem assim como os valores de referência padronizados pelo HCFMRP-USP, estão descritos no Quadro 3.

Exames Bioquímicos	Valores de Referência	Método de Análise
Glicemia de jejum (mg/dL)	70 - 100	Enzimático
Colesterol Total (mg/dL)	< 200	Calorimétrico
HDL-c (mg/dL)	> 35	Calorimétrico
LDL-c (mg/dL)	< 130	Calorimétrico
Triglicérides (mg/dL)	<150	Calorimétrico
AST (U/L)	< 32	Método segundo IFCC e ECCLS
ALT (U/L)	< 31	Método segundo IFCC e ECCLS
Gama GT (U/L)	11-50	Método segundo IFCC e ECCLS
Fosfatase Alcalina (U/L)	65-300	Método segundo IFCC e ECCLS

HDL-c: fração de colesterol de lipoproteína de alta densidade; LDL-c: fração de colesterol de lipoproteína de baixa densidade; AST: aspartato amino-transferase; ALT: alanina amino-transferase; Gama GT: gama-glutamilttransferase.

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

5.12. Coleta do tecido adiposo

Para o GI, antes do início do protocolo de suplementação de chá verde, as pacientes foram submetidas à biópsia, sendo extraído 2g de tecido adiposo na linha média, acima da cicatriz umbilical do lado superior direito, com anestesia local. E após 8 semanas de suplementação, o procedimento foi repetido com uma pequena incisão no mesmo local da cicatriz prévia.

No grupo controle, o tecido adiposo foi coletado em um único momento durante o ato cirúrgico de colelitíase ou hérnia umbilical por meio de uma incisão de 1 cm na linha média supra-umbilical.

Os procedimentos de ambos os grupos foram conduzidos pela mesma equipe e com jejum de pelo menos 2 horas. As amostras foram armazenadas em nitrogênio líquido e estocadas a -80 °C. A localização da coleta do tecido adiposo foi padronizada no presente estudo, considerando a variação da expressão gênica em diferentes regiões do abdômen (REHRER et al., 2012).

5.13. Análise da Expressão Gênica

5.13.1. Extração de RNA

Após a realização da biópsia, as amostras de tecido adiposo subcutâneo foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer à -80 °C. O RNA foi extraído a partir de 2 g do tecido adiposo subcutâneo, utilizando o método de extração fenolclorofórmio (CHOMCZYNSKI; SACCHI, 2006). Para extração, descongelou-se e macerou o tecido em gelo seco. Em seguida, foi adicionado à amostra o volume de 1000 µL de *Trizol* (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), 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 a 12.000 g por 15 minutos a 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 20 µL de água RNase free. E por fim, a amostra foi armazenada à -80° C.

A quantificação do RNA foi lida em fluorímetro *Qubit®2.0* (Thermo Fisher Scientific) e as amostras de RNA foram armazenadas em freezer -80 °C, garantindo estabilidade e preservação.

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

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

5.13.3. Análise de Expressão Gênica – PCR em tempo real (RT-qPCR)

A análise de expressão gênica do presente estudo foi realizada em triplicata por RT-qPCR utilizando o aparelho *7500 Fast real PCR System* (Applied Biosystems). Para comparar os momentos antes e após suplementação de chá verde do GI, calculou-se, em programa computacional, a variação do ciclo de quantificação (Ct) do grupo intervenção em relação ao Ct do grupo controle, ambos 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 *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3* por meio da RT-qPCR, foram utilizadas as sondas de hidrólise descritas no Quadro 4.

Gene	Sonda
<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
<i>ADRB3</i>	Hs00609046_m1

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

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

5.13.4. Controle endógeno

Dois genes de referência (*GAPDH* e β -actina) (Quadro 5) foram utilizados para normalizar a expressão dos mRNAs dos genes analisados, com o objetivo de verificar eficiência da reação de transcrição reversa entre as amostras e diferenças na quantidade e qualidade do RNA. 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 (Thermo Fisher Scientific), seguindo instruções do fabricante.

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

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

5.14. Análise Estatística

As variáveis contínuas foram descritas em média e desvio padrão (média $\pm$ DP) e as categóricas em porcentagem. Para avaliar a normalidade dos dados foi utilizado o teste de *Shapiro-Wilk*. Utilizou-se o teste t para amostras pareadas para comparação das variáveis antes e após suplementação de chá verde e o teste t para amostras independentes para comparação do grupo intervenção 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 ajustada por idade para verificar a contribuição da expressão dos genes na antropometria, composição corporal, taxa metabólica de repouso e ingestão alimentar. Analisou-se também pelo mesmo método, a contribuição da ingestão de macronutrientes na expressão gênica. 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 (IBM SPSS Statistics 20)*.

Resultados

6. RESULTADOS

Participaram do presente estudo 21 indivíduos, sendo 11 mulheres com obesidade grau III (GI), média de idade de $34,5 \pm 7,3$ anos, submetidas ao protocolo de suplementação de chá verde durante 8 semanas e 10 mulheres eutróficas (GC) com média de idade de $36,3 \pm 12,0$ anos.

Na Tabela 4 estão descritas as informações sobre a frequência de hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus, dislipidemia, tabagismo, etilismo e histórico familiar de excesso de peso. Tanto no GI como no GC observou-se prevalência de HAS de 27,3% e 20%, respectivamente. Não foram averiguadas outras doenças em ambos os grupos. Quanto ao histórico familiar de excesso de peso, GI apresentou 90,9% comparado a 60% no GC.

Tabela 4- Prevalência de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemia, tabagismo, etilismo e histórico familiar de excesso de peso das pacientes com obesidade grau III (GI) e eutróficas (GC)

Variáveis	GI (n=11)		GC (n=10)	
	N	%	N	%
HAS	3	27,3	2	20,0
DM	0	0,0	0	0,0
DLP	0	0,0	0	0,0
Tabagista	0	0,0	0	0,0
Etilista	0	0,0	0	0,0
Histórico Familiar de excesso de peso	10	90,9	6	60,0

HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica DM; Diabetes Mellitus; DLP: Dislipidemia.

Na Tabela 5 estão apresentados os dados do consumo alimentar em energia, carboidrato (gramas e % VCT - Valor calórico total), proteínas (gramas e % do VCT) e lipídios (gramas e % do VCT) das pacientes do GI antes, durante e após intervenção e do GC. Ao avaliar o consumo das pacientes do grupo intervenção, durante as 8 semanas de suplementação, nota-se uma redução da ingestão de carboidrato em gramas do início (T0) para o final (T2).

Observou-se que ao comparar o grupo controle com o grupo intervenção antes da suplementação de chá verde (T0), o último apresentou maior ingestão calórica e de proteínas em gramas. Após quatro semanas de suplementação (T1), o GI consumiu mais proteínas em gramas, lipídios em gramas e % do VCT, quando

comparado com GC. Já ao final de 8 semanas de suplementação de chá verde, o GI ingeriu mais energia, carboidrato em % do VCT, proteínas e lipídios em gramas.

Tabela 5- Consumo alimentar de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0), após 4 semanas (T1) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e mulheres eutróficas (GC)

Variáveis	GI			GC (n=10)
	T0 (n=11)	T1 (n=11)	T2 (n=11)	
Energia (kcal)	2507,2±406,1	2247,3±472,6	2260,2±153,9	1784,4±584,7 ^{a,c}
Carboidrato (g)	350,3±41,7	261,5±69,9	263,9±55,5 ^a	232,3±83,4
Carboidrato (% do VCT)	56,9±10	47,5±13,9	46,4±7,4	51,9±4,3 ^c
Proteína (g)	98,3±22,7	90,5±12,6	103,2±34,8	69,3±19,9 ^{a,b,c}
Proteína (% do VCT)	15,9±3,6	16,3±1,6	18,6±7,6	16,0±2,4
Lipídio (g)	82,2±29,7	105,1±12,7	87,9±11,9	67,6±33,2 ^{b,c}
Lipídio (% do VCT)	28,9±6,9	42,9±5,9	35±3,6	33,5±9,7 ^b

kcal: quilocaloria; g: gramas; VCT: valor calórico total; T0: antes da suplementação de chá verde; T1: após 4 semanas de suplementação de chá verde; T2: após 8 semanas da suplementação de chá verde; a: $p < 0,05$ em relação ao GI – T0; b: $p < 0,05$ em relação ao GI - T1; c: $p < 0,05$ em relação ao GI - T2

Na tabela 6 estão descritas as variáveis de antropometria, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos das pacientes do GI e GC. Ao comparar o momento T1 e T2 do grupo intervenção, não houve alterações nas variáveis antropométricas, de composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substratos das pacientes. Apesar do resultado encontrado, ao analisar os dados brutos, observou-se que 27,3% das mulheres submetidas à suplementação (três pacientes) apresentaram perda de peso, chegando até a 4% do peso inicial.

Valores menores foram observados no grupo controle para as seguintes variáveis quando comparado com o grupo intervenção antes (T1) e após a suplementação de chá verde (T2): IMC, CA, MLG em kg, MG (kg e %), VO_2 , VCO_2 , TMR e oxidação de lipídios. No entanto, a MLG em % foi maior no grupo controle. Em relação ao quociente respiratório e a oxidação de carboidrato, observa-se valores maiores no grupo controle ao comparar com o GI após o período de suplementação (T2).

Tabela 6- Antropometria, composição corporal, taxa metabólica de repouso e oxidação de substrato de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e eutróficas (GC)

Variáveis	GI		GC
	T0 (n=11)	T2 (n=11)	(n=10)
Idade	34,5±7,3	34,6±7,3	34,0±11,0
Peso (kg)	118,6±17,4	118,7±17,6	55,8±6,2 ^{a,b}
Estatura (cm)	162±5,8	162±5,8	160±6,7
IMC (kg/m²)	45±4,6	45,1±4,9	21,8±2,1 ^{a,b}
CA (cm)	129,4±13,4	130,3±13,3	78,4±8,3 ^{a,b}
MLG (kg)	55,9±4,6	55,7±4,3	38,7±5,2 ^{a,b}
%MLG	47,6±3,3	47,3±3,4	69,4±3,5 ^{a,b}
MG (kg)	62,7±13,1	62,9±13,5	17,1±2,3 ^{a,b}
%MG	52,4±3,3	51,8±4,3	30,7±3,4 ^{a,b}
VO₂ (L/min)	0,28±0,03	0,29±0,04	0,19±0,03 ^{a,b}
VCO₂ (L/min)	0,20±0,02	0,19±0,02	0,15±0,01 ^{a,b}
TMR (kcal/dia)	1932,5±206,9	1951,8±239,3	1358,51±161,2 ^{a,b}
QR	0,72±0,05	0,69±0,03	0,78±0,09 ^b
Ox de CHO (g/dia)	15,4±90,9	-33,07±65,9	85,4±100,1 ^b
Ox de Lip (g/dia)	195,3±46,7	216,3±43,7	107,9±49,7 ^{a,b}
Ox Total (g/dia)	210,7±53,1	183,2±35,6	193,4±54,6

kg: quilograma; IMC: índice de massa corporal; m: metro; CA: circunferência abdominal; cm: centímetro; MLG: massa livre de gordura; 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; T0: antes da suplementação de chá verde; T2: após 8 semanas de suplementação de chá verde; a: $p < 0,05$ quando comparado com o GI – T0; b: $p < 0,05$ quando comparado com o GI – T2.

Na Tabela 7 estão apresentados os valores de TMR absoluta e corrigidos por peso (TMR/peso) e massa livre de gordura (TMR/MLG) das pacientes do grupo GI (T0 e T2) e GC. Não houve diminuição estatisticamente significativa na TMR absoluta do GI após suplementação de chá verde, resultado semelhante foi observado quando corrigido pelo peso corporal e por MLG. Ao compararmos o GI com o GC, observamos que as mulheres com obesidade tanto antes quanto após a suplementação de chá verde apresentaram maior TMR absoluta e menor TMR ajustada por peso.

Tabela 7- Taxa metabólica de repouso em termos absolutos e ajustados por peso e massa corporal magra de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e eutróficas (GC)

Variáveis	GI		GC (n = 10)
	T0 (n = 11)	T2 (n = 11)	
TMR absoluta (kcal)	1932,5±206,9	1951,8±239,3	1358,5±161,2 ^{a,b}
TMR/Peso (kcal/kg)	16,4±1,2	16,6±1,9	24,6±4 ^{a,b}
TMR/MLG (kcal/kg)	34,5±1,7	35±3,1	35,7±6,6

TMR: taxa metabólica de repouso; kcal: quilocaloria; kg: quilograma; MLG: massa livre de gordura; T0: antes da suplementação de chá verde; T2: após 8 semanas de suplementação de chá verde; a: $p<0,05$ quando comparado com o GI – T0; b: $p<0,05$ quando comparado com o GI – T2.

Na Tabela 8 estão descritos os indicadores bioquímicos dos grupos estudados. Não houve diferença estatisticamente significativa nas variáveis: glicemia de jejum, colesterol total, HDL-c, LDL-c e triglicérides após a suplementação de chá verde. Já o grupo intervenção antes da suplementação (T0) apresentou maiores concentrações de LDL-c e triglicérides comparados ao controle, e desses apenas o triglicérides continuou maior após 8 semanas de suplementação (T2).

Tabela 8- Indicadores bioquímicos de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2) e eutróficas (GC)

Variáveis	GI		GC (n = 10)
	T0 (n = 11)	T2 (n = 11)	
Glicemia jejum (mg/dl)	92±6,6	91,55±8,6	85,7±9,8
Colesterol total (mg/dl)	196,5±33,9	214,36±88,7	160,2±36,1
HDL-c (mg/dl)	46,4±8,1	44,82±6,8	47,2±8,7
LDL-c (mg/dl)	131,4±19,5	145,09±87,1	99,7±31,2 ^a
Triglicérides (mg/dl)	120±47,6	122,36±60,7	66,2±23,9 ^{a,b}

mg: miligrama; dl: decilitro; T0: antes da suplementação de chá verde; T2: após 8 semanas de suplementação de chá verde; a: $p<0,05$ quando comparado com o GI – T0; b: $p<0,05$ quando comparado com o GI – T2.

Na Tabela 9 estão apresentados os valores de biomarcadores hepáticos do grupo intervenção, no início do estudo (T0), após 4 semanas de suplementação de chá verde (T1) e ao final de 8 semanas (T2). Não houve alterações nas variáveis de AST, ALT, fosfatase alcalina entre os tempos analisados. Porém, verificou-se diminuição do Gama-GT quando comparamos o T0 com o T2.

Tabela 9- Biomarcadores hepáticos de pacientes com obesidade grau III (GI) antes (T0), após 4 semanas (T1) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2)

Variáveis	GI		
	T0 (n = 11)	T1 (n = 11)	T2 (n = 11)
AST (U/L)	16,5±3,1	16,7±3,6	15,8±2,4
ALT (U/L)	18,5±7	17,9±6,9	16,7±5,4
Gama-GT (U/L)	29,2±11,6	25,7±8,9	25,2±9,3 ^a
Fosfatase Alcalina (U/L)	168±32	180,2±33,2	176,7±28,6

mg: miligrama; dl: decilitro; AST: aspartato amino-transferase; ALT: alanina amino-transferase; Gama GT: gama-glutamilttransferase; T0: antes da suplementação de chá verde; T2: após 8 semanas de suplementação de chá verde; a: $p<0,05$ quando comparado com o GI – T0; b: $p<0,05$ quando comparado com o GI – T1.

As figuras de 7 a 12 mostram a expressão dos genes *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3* antes e após oito semanas de suplementação de extrato de chá verde descafeinado. Houve aumento da expressão do gene *UCP3* após o período de suplementação ($p=0,026$). Quando comparamos o grupo controle com o grupo intervenção, nota-se que os genes *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3* estão mais expressos nos indivíduos com obesidade. O grupo controle (GC) foi o calibrador e a expressão gênica do GI representa quantas vezes cada gene foi expresso acima do GC.

Figura 7- Expressão relativa do gene *UCP1* em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,110$)

Figura 8- Expressão relativa do gene *UCP2* em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,477$)

Figura 9- Expressão relativa do gene *UCP3* em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,026$)

Figura 10- Expressão relativa do gene *PLIN1* em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,328$)

Figura 11- Expressão relativa do gene *PPARG2* em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,374$)

Figura 12- Expressão relativa do gene *ADRB3* em mulheres com obesidade grau III (GI) antes (T0) e ao final de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde (T2). Dados expressos na base logarítmica $2\Delta\Delta Ct$. ($p=0,155$)

As análises de correlação entre expressão gênica e as variáveis estudadas mostraram correlações entre a expressão de *UCP2* com os indicadores antropométricos, composição corporal e TMR antes da suplementação de chá verde no grupo intervenção. Observou-se correlação negativa entre a expressão de *UCP2*

com o peso, IMC, circunferência abdominal, massa livre de gordura e massa gorda. Entretanto, essa correlação foi positiva com a TMR ajustada pelo peso (Figura 13).

Figura 13- Correlação entre expressão do gene *UCP2* e peso (A); IMC: Índice de Massa Corporal (B); CA: circunferência abdominal (C); MLG: massa livre de gordura (D); MG: massa gorda (E); TMR ajustado pelo peso: taxa metabólica de repouso ajustado pelo peso (F) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de chá verde

Em relação ao gene *PLIN1* nas mulheres do grupo intervenção antes da suplementação de chá verde, houve uma correlação negativa entre a expressão desse gene com o peso, massa livre de gordura e massa gorda e uma correlação positiva com a TMR ajustada pelo peso (Figura 14).

Figura 14- Correlação entre expressão do gene *PLIN* e peso (A); MLG: massa livre de gordura (B); MG: massa gorda (C); TMR ajustado pelo peso: taxa metabólica de repouso ajustado pelo peso (D) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde

Em relação ao gene *PPARG2*, verifica-se uma correlação negativa entre sua expressão com o peso e massa gorda, em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de chá verde. Porém, essa correlação foi positiva com a TMR ajustada pelo peso (Figura 15).

Figura 15- Correlação entre expressão do gene *PPARG2* e peso (A); MG: massa gorda (B); TMR ajustado pelo peso: taxa metabólica de repouso ajustado pelo peso (C) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde

As análises de regressão linear múltipla evidenciaram apenas a contribuição da expressão de *UCP2* nas variáveis de peso e massa gorda, em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de chá verde (Tabela 10).

Tabela 10- Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão do gene *UCP2* no peso e massa gorda em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde

Genes - Variável	β	r^2	p	IC 95%
<i>UCP2</i> - Peso				
Modelo 1	-0,698	0,487	0,017	(-155,082; -2,023)
Modelo 2	-0,576	0,484	0,045	(-2,150; 0,533)
<i>UCP2</i> - MG				
Modelo 1	-0,703	0,494	0,016	(-117,668; -2,454)
Modelo 2	-0,584	0,487	0,043	(-1,608; 0,412)

MG: massa gorda; r^2 : coeficiente de determinação; IC: intervalo de confiança; Modelo 1: regressão linear; Modelo 2: regressão linear ajustada idade; $p < 0,05$.

Ao final de oito semanas de suplementação de chá verde, houve apenas a correlação negativa entre a expressão de *UCP1* com oxidação de lipídio (Figura 16).

Figura 16- Correlação entre expressão do gene *UCP1* com a oxidação de lipídios em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde

Ao analisar a expressão dos genes e a composição da dieta, antes da suplementação de chá verde em mulheres com obesidade grau III, averiguou-se correlação positiva entre a ingestão energética ajustada por peso da paciente com a expressão dos genes *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2*. Houve também uma correlação positiva entre a ingestão de carboidrato em gramas ajustada por peso da paciente com a expressão de *UCP2* e *PLIN* (Figuras 17 e 18).

Figura 17- Correlação entre a ingestão de energia em quilocalorias por quilograma de peso com expressão do gene *UCP2* (A); *UCP3* (B); *PLIN1* (C) e *PPARG* (D) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde

Figura 18- Correlação entre ingestão de carboidrato (CHO) em quilocalorias por quilograma de peso com expressão do gene *UCP2* (A) e *PLIN1* (B) em pacientes com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde

As análises de regressão linear múltipla evidenciaram apenas a contribuição da ingestão calórica por quilograma de peso na expressão do gene *UCP2*, em mulheres com obesidade, antes da suplementação de chá verde (Tabela 11).

Tabela 11- Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente ingestão energética na expressão do gene *UCP2* em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de extrato de chá verde

Genes	β	r^2	p	IC 95%
<i>Energia (kcal/kg de peso)</i>				
Modelo 1	0,719	0,517	0,019	(0,001; 0,040)
Modelo 2	0,677	0,395	0,045	(-0,009; 0,013)

kcal: quilocalorias; kg: quilograma; r^2 : coeficiente de determinação; IC: intervalo de confiança; Modelo 1: regressão linear; Modelo 2: regressão linear ajustada idade, $p < 0,05$.

Discussão

7. DISCUSSÃO

Este trabalho teve como principal objetivo investigar o impacto de 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde descafeinado em mulheres com obesidade grau III, em particular nas variáveis antropométricas, composição corporal, taxa metabólica de repouso, oxidação de substratos, indicadores bioquímicos e expressão de genes relacionados ao metabolismo energético e lipídico.

A escolha da dose de 3-galato de epigallocatequina (GEGC) para o presente estudo foi baseada em ensaios clínicos prévios de suplementação de chá verde. Os efeitos antiobesogênicos do chá verde foram evidenciados nos estudos que utilizaram doses entre 100–690 mg de GEGC (CHANTRE; LAIRON, 2002; DULLOO et al., 1999; KAJIMOTO et al., 2005; NAGAO; HASE; TOKIMITSU, 2007; NAGAO et al., 2005). Em relação à hepatotoxicidade, a literatura revelou que a suplementação entre 150-380 mg de GEGC não causou danos hepáticos (HSU et al., 2008; KAJIMOTO et al., 2005; MIELGO-AYUSO et al., 2014). Porém, averiguou-se que doses mais altas, 856,8 mg GEGC, resultaram em leve aumento das enzimas do fígado (CHEN et al., 2016). Dessa forma, avaliando os dados de dano hepático e efeitos benéficos do chá verde, o presente estudo optou por administrar 450 mg de GEGC por dia.

Para avaliar apenas o efeito da suplementação de extrato de chá verde, as voluntárias do grupo intervenção foram orientadas a não alterar o padrão alimentar ou nível de atividade física. O consumo alimentar dessas mulheres durante as 8 semanas do estudo se manteve igual, exceto pela redução da ingestão de carboidratos em gramas ($p=0,022$), no entanto, essa modificação não foi capaz de alterar a porcentagem de carboidrato em relação ao valor calórico total da dieta ($p=0,190$).

As mulheres do grupo intervenção apresentaram maior ingestão de calorias, proteínas e lipídios em gramas que as eutróficas, apesar disso os valores encontrados não condizem com as variáveis antropométricas desse grupo. Um estudo relatou que mulheres apresentam com mais frequência comportamento de sub-relato alimentar (CLARK et al., 1992, 1994), corroborando com esses achados, Nonino et al. (2007) observaram perda de peso em mulheres com obesidade grau III recebendo dieta de 2500 kcal, embora o recordatório alimentar mostrasse ingestão média de 2110 kcal por dia. Ainda, outros estudos averiguaram que 70% dos

indivíduos com obesidade informam valores fisiologicamente improváveis de energia ingerida (BLUNDELL; GILLET, 2001). Para explicar os motivos do sub-relato, Scagliusi e Lancha-Júnior (2003) concluíram que esse é um fenômeno complexo que envolve fatores morais, emocionais, sociais, físicos e cognitivos.

Em relação ao impacto da suplementação durante oito semanas de extrato de chá verde descafeinado, não foi evidenciada alteração do peso, IMC, circunferência abdominal, massa livre de gordura e massa gorda em mulheres com obesidade grau III. Contrapondo nossos achados, estudos notam que utilização de extrato de chá verde, catequinas e mesmo misturas de catequinas com cafeína reduzem o peso corporal, circunferência abdominal e massa gorda (CHANTRE; LAIRON, 2002; JANSSENS; HURSEL; WESTERTEP-PLANTENGA, 2016; NAGAO; HASE; TOKIMITSU, 2007; WANG et al., 2010). Contudo, o presente estudo corrobora com uma revisão sistemática e meta-análise contendo ensaios aleatorizados e controlados do período de 2000 a 2013, a qual averiguou que a ingestão de chá verde e seus extratos (catequinas e cafeína) não tiveram efeito estaticamente significativo ou clinicamente relevante sobre o peso e a composição corporal de adultos de 18 a 60 anos com sobrepeso e obesidade (BALADIA et al., 2013).

Dessa forma, alguns pontos poderiam explicar os resultados conflitantes encontrados na literatura, como por exemplo, se o efeito do GEGC nas medidas antropométricas pode ser dose dependente. Hsu et al. (2008) demonstraram que a suplementação de 377 mg de GEGC descafeinado, em mulheres com obesidade por 12 semanas, não influenciou a porcentagem de redução peso, IMC e circunferência abdominal. No entanto, quando o mesmo grupo de pesquisa, aumentou a dosagem para de 856,8 mg GEGC foi possível observar diminuição dessas variáveis (CHEN et al., 2015).

Além da dose, a população estudada pode gerar resultados distintos. Sendo assim, ensaios conduzidos com asiáticos mostram que a administração de catequinas do chá verde em longo prazo reduziu o peso corporal e massa gorda (HASE et al., 2001; NAGAO; HASE; TOKIMITSU, 2007; WANG et al., 2010). Já a suplementação em tempos semelhantes em caucasianos, não revelou perda de peso (DIEPVENS et al., 2006). Esses achados podem ser atribuídos à diferença dos hábitos alimentares, perfil genético e composição corporal, uma vez que asiáticos possuem maior porcentagem de massa gorda quando comparados com caucasianos de mesmo IMC (JANSSENS; HURSEL; WESTERTEP-PLANTENGA,

2015; WULAN; WESTERTERP; PLASQUI, 2010). Extrapolando essa questão para o presente estudo, deve-se ressaltar que a população brasileira é um modelo de miscigenação, sofrendo influência da heterogeneidade dos ameríndios, europeus e africanos (PENA et al., 2011), o que dificulta o isolamento dessa variável.

Nos estudos em que o chá verde desencadeia perda peso, esta ocorre possivelmente pelo aumento da oxidação de lipídios e gasto energético (AUVICHAYAPAT et al., 2008; BÉRUBÉ-PARENT et al., 2005; DULLOO et al., 1999; HARADA et al., 2005). Há a hipótese de que o efeito termogênico do chá verde resulte do sinergismo entre catequinas e cafeína (DULLOO et al., 2000; HODGSON; RANDELL; JEUKENDRUP, 2013), uma vez que esse efeito é maior quando se utiliza o extrato de chá verde em comparação com a cafeína isolada (DULLOO et al., 1999).

Uma meta-análise conduzida por Hursel et al. (2011) mostrou que cafeína isolada e a mistura catequina-cafeína aumentaram o gasto energético, além disso, a última foi capaz de exacerbar a oxidação lipídica. Tendo em vista que catequina e cafeína aumentam o gasto energético, no presente estudo pudemos avaliar o efeito isolado da catequina, uma vez utilizou-se extrato descafeinado. Como resultado, observamos que 450 mg de GEGC não foi capaz de alterar a taxa metabólica de repouso e a oxidação de substratos em mulheres com obesidade grau III.

As catequinas podem ser menos efetivas para aumentar a taxa de oxidação de lipídios em indivíduos com obesidade grau III, uma vez que essa taxa já é maior nessa população quando comparados aos eutróficos (HURSEL et al., 2011). Esses dados corroboram com Schutz et al. (1992) que mostraram que indivíduos com massa gorda aumentada já apresentam oxidação lipídica superior ao longo do tempo. No presente estudo, semelhantemente averiguou-se que as mulheres com obesidade grau III possuíam taxa de oxidação lipídica maior que o grupo controle.

A cafeína e as catequinas podem alterar o gasto energético por diferentes vias, sendo que a cafeína pode inibir a fosfodiesterase e as catequinas a catecol-O-metiltransferase (COMT), ambas as enzimas inibidas, desencadeiam elevação dos níveis de norepinefrina e adenosina monofosfato-cíclico (AMPc) o que resulta no aumento da termogênese e oxidação lipídica (DULLOO et al., 1999). A enzima COMT, além de ser inibida pelas catequinas, exerce papel importante no metabolismo das mesmas (HODGSON et al., 2006).

É averiguado que além das diferenças mencionadas, os grupos étnicos apresentam variação na sensibilidade à catequina e a atividade da enzima COMT, sendo que os asiáticos são três vezes mais sensíveis do que os caucasianos em mudanças da termogênese dependente de catequina e possuem maior atividade da COMT (HODGSON et al., 2006; PALMATIER; KANG; KIDD, 1999). Dessa forma, embora não tenha sido avaliado, discute-se se os indivíduos do nosso estudo apresentam baixa sensibilidade às catequinas e à atividade da enzima COMT, como os caucasianos, o que explicaria a ineficácia do chá verde como modulador da TMR.

O quociente respiratório (QR) que é calculado pela razão entre as variáveis VCO_2 e VO_2 identifica qual substrato energético (proteína, lipídio ou glicose) é oxidado no momento da mensuração da TMR. No início desse estudo, mulheres com obesidade grau III e eutróficas apresentaram predomínio da oxidação de lipídios, resultado evidenciado em QR próximo a 0,7 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO PARENTERAL E ENTERAL; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CLÍNICA MÉDICA, 2009), contudo, após 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde, o grupo intervenção teve QR menor quando comparado com o grupo controle. Faria et al. (2012) apontaram que valores menores do QR são atribuídos ao aumento da oxidação de lipídios, sendo justificado por um mecanismo compensatório do corpo para restaurar o equilíbrio de gordura corporal, o que foi evidenciado no presente estudo, uma vez que o grupo intervenção oxidou mais lipídio comparado ao grupo controle.

Ainda, foi possível observar diminuição significativa da oxidação de carboidrato após a suplementação de extrato de chá verde quando comparada com o controle ($p=0,04$), o que pode explicar a manutenção da TMR. Flatt e Tremblay (1998) medindo o gasto energético diário, individualmente e em dias consecutivos, observaram que o uso de carboidratos como combustível, quando comparado aos lipídios, proporcionou um aumento de 9 a 12% no gasto energético.

Ao analisarmos o impacto hipoglicêmicos dos compostos polifenólicos da dieta *in vitro*, estes podem estar relacionado com a inibição da α -amilase salivar e pancreática e α -glicosidade, enzima da borda em escova do intestino delgado, que inibe a absorção de glicose e estimula a secreção de insulina. Somado a isso, os polifenóis podem suprimir a liberação de glicose no fígado e melhorar sua captação nos tecidos periféricos, pela modulação da sinalização intracelular (HANHINEVA et al., 2010). Tendo em vista estes efeitos relatados, muitos estudos têm investigado

os mecanismos moleculares do extrato de chá verde na glicose (LI et al., 2016). A catequina GEGC, considerada a mais biotiva, pode reverter o status de resistência à insulina pela inibição da proliferação e diferenciação dos pré-adipócitos 3T3-L1 (FURUYASHIKI et al., 2004), pelo aumento da oxidação de ácidos graxos (KLAUS et al., 2005) e expressão do transportador de glicose (GLUT 4) no tecido adiposo (WU et al., 2004). O estudo conduzido por Hase et al. (2001) mostrou que o consumo de 300 mg GEGC por 12 semanas teve impacto na redução das concentrações plasmáticas de glicose e de insulina.

Diferentemente, no presente estudo não foi evidenciada alterações na glicose plasmática de jejum após a suplementação de extrato de chá verde descafeinado, corroborando com Wang, X. et al. (2014). Esse achado pode ser explicado pela diferença espécie-espécie no metabolismo de glicose e sua regulação, o que contribuiu para incompatibilidade de resultados entre animais e humanos.

Em relação ao lipidograma, estudos demonstraram que o chá verde pode diminuir o LDL-c e aumentar o HDL-c (HSU et al., 2008), outros estudos mostram a redução do colesterol sérico (FRANK et al., 2009; NANTZ et al., 2009). No nosso estudo, não foi averiguada influência da suplementação de chá verde descafeinado nos parâmetros do perfil lipídico, semelhante aos estudos de Chan et al. (2006) e Li et al. (2016).

No presente estudo, a suplementação de 450 mg de GEGC por 8 semanas não alterou os biomarcadores hepáticos, sugerindo que a dosagem selecionada foi segura para essa população. Além disso, foi possível observar redução da enzima gama GT, considerada marcadora de lesão hepatobiliar de alta sensibilidade, mas de pouca especificidade, uma vez que pode estar alterada por uso de medicação, álcool e doenças sistêmicas (ARAÚJO; LIMA; DALTRO, 2005).

O primeiro caso de dano hepático relacionado com o consumo de extrato de chá verde foi descrito em 1999 (GAVILÁN et al., 1999). Uma análise dos casos reportados sugere associação entre chá verde e hepatotoxicidade, sendo essa provavelmente ligada GEGC e seus metabólitos que podem induzir o dano pelo estresse oxidativo no fígado (MAZZANTI et al., 2009). A literatura demonstra que esse efeito pode ser dose dependente, uma vez que a administração em torno de 850 mg de GEGC desencadeou leve aumento de enzimas hepáticas fígado (CHEN et al., 2016). Com isso, se acentua a necessidade do monitoramento da função hepática durante estudos de suplementação de chá verde.

Neste estudo, ao analisarmos o efeito do chá verde no perfil de expressão gênica, foi evidenciado que a suplementação durante 8 semanas de extrato de chá verde descafeinado, contendo 450 mg de GEGC, não alterou a expressão dos genes *UCP1*, *UCP2*, *PLIN1*, *PPARG2* e *ADRB3*, porém houve aumento na expressão do gene *UCP3*. Assim, a análise da expressão desses genes condiz com a ineficácia da suplementação, uma vez que não houve alterações nas variáveis antropométricas, composição corporal, TMR e oxidação de substratos.

A literatura tem demonstrado que a GEGC atenua a obesidade induzida pela dieta, inibindo a expressão de enzimas lipogênicas como a ácido graxo sintase e acetil-CoA carboxilase 1 no tecido adiposo branco (MURASE et al., 2002). Huang et al. (2013) notaram a diminuição da expressão de genes chaves relacionados com a síntese lipídica e aumento dos associados à β -oxidação. Ainda, estudo *in vivo* mostrou que o GEGC reduziu o peso corporal, concentração plasmática de triglicerídeos, colesterol e leptina, assim como supressão dose dependente de GEGC dos genes *PPARG*, *C/EBP-*, *SREBP-1c*, *aP2* e diminuição mRNA da leptina, resistina e adiposina. Esses resultados sugerem que a GEGC pode modular o acúmulo lipídico pela supressão da expressão gênica de fatores de transcrição, enzimas relacionadas à adipogênese e fatores hormonais do tecido adiposo branco (LEE; KIM; KIM, 2009).

Yan, Zhao e Zhao (2013) mostraram que as catequinas do chá verde *in vivo* podem exercer os efeitos antiobesogênicos através da via PPAR, alterando a expressão do *PPARG* tanto no tecido adiposo branco subcutâneo quanto tecido adiposo branco visceral (YAN; ZHAO; ZHAO, 2013). Contudo, os resultados apresentados *in vivo* não foram observados no presente estudo.

Estudos revelaram que a suplementação de chá verde, mas não a GEGC isolada aumentou a expressão de *PPAR-alfa in vitro* (LEE, 2004) e *in vivo* (ABE et al., 2009; CHEN et al., 2009). Com isso, surge o questionamento se há diferença entre a administração do chá verde com todos os seus componentes descritos e não descritos, e do extrato manipulado, como por exemplo, a retirada da cafeína ou a concentração de GEGC. Pensando nisso, sugere-se que a utilização do extrato de chá verde descafeinado, neste estudo, pode ser mais um fator responsável pela ineficácia encontrada.

Este estudo averiguou que mulheres com obesidade grau III expressam mais *UCP1*, *UCP2* e *UCP3* que as eutróficas. A *UCP1* é um importante regulador da

termogênese adaptativa em mamíferos (RICHARD; PICARD, 2011) e após 8 semanas de suplementação de extrato de chá verde, evidenciou correlação negativa entre a expressão de *UCP1* com oxidação lipídica. O mesmo foi observado em estudo recentemente publicado por nosso grupo de pesquisa, no qual verificou-se a associação entre expressão de *UCP1* e oxidação lipídica em mulheres com obesidade grau III (OLIVEIRA et al., 2016).

A *UCP2* e *UCP3* dissipam o gradiente de prótons prevenindo excesso desses e diminuindo EROS produzido pelo transporte de elétrons (GARLID et al., 2000). A meta-análise com mais de 17000 indivíduos dinamarqueses demonstrou que o polimorfismo *UCP2* -866G>A (rs659366) desencadeia o aumento da expressão desse gene, e associa-se com obesidade e menor sensibilidade à insulina (ANDERSEN et al., 2013). Contrariando esses achados, outros estudos mostram maior expressão de *UCP2*, no tecido adiposo, em indivíduos magros quando comparados aos com obesidade (MAHADIK et al., 2012; OBERKOFER et al., 1998).

Este estudo mostrou que a expressão de *UCP2* nas mulheres com obesidade grau III antes da suplementação foi indiretamente proporcional as variáveis antropométricas e de composição corporal. Ainda, as análises de regressão linear mostraram que dentre essas mulheres, as que possuíam maior expressão de *UCP2*, apresentavam menor peso ($p=0,043$) e massa gorda ($p=0,045$), mesmo quando ajustados por idade. Como mencionado, alguns estudos observaram maior expressão de *UCP2* em indivíduos magros (MAHADIK et al., 2012; OBERKOFER et al., 1998), dessa forma, sugere-se que esse gene pode estar relacionado ao menor peso mesmo dentre os indivíduos com obesidade.

Quanto a influência do consumo alimentar na expressão gênica, este estudo apontou que em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de chá verde, a ingestão energética acarreta o incremento da expressão de *UCP2* ($p=0,045$), o que corrobora com a literatura, uma vez que estudos *in vivo* sugerem que *UCP2* é modulada por alterações do consumo alimentar (XIAO et al., 2004), principalmente pela gordura dietética que foi capaz de aumentar em duas vezes a *UCP2* após duas semanas de dieta hiperlipídica (SURWIT et al., 1998).

A suplementação proposta neste estudo foi capaz de aumentar a expressão do gene *UCP3* ($p=0,026$). Inicialmente, as pesquisas mostraram que a função da *UCP3* poderia estar ligada ao gasto de energia (BOUCHARD et al., 1997; WALDER et al.,

1998). Entretanto, a literatura propôs a hipótese que a função primária da UCP3 está relacionada com a translocação dos ácidos graxos não esterificados para fora da matriz mitocondrial, especialmente quando o fornecimento de ácidos graxos excede a oxidação. Devido a esta função, a *UCP3* desacopla a respiração mitocondrial, explicando seu impacto no metabolismo energético (GOGLIA; SKULACHEV, 2003; SCHRAUWEN; SARIS; HESSELINK, 2001).

Segundo Millet et al. (1997) indivíduos eutróficos e com obesidade submetidos a uma dieta hipocalórica, 1045 kcal, durante cinco dias, apresentaram um aumento de 2 a 2,5 vezes na expressão de *UCP2* e *UCP3*. Esse aumento da expressão gênica sugere um papel dessas proteínas no metabolismo de adaptação ao jejum (MILLET et al., 1997). Logo, se discute se o aumento de *UCP3* encontrado no presente estudo seria consequência da ativação do metabolismo adaptativo o que prejudicou a perda de peso, ou ainda, se esse aumento seria um efeito induzido pelo chá verde, em resposta a oxidação lipídica aumentada nas mulheres com obesidade.

Vale ressaltar que mulheres com obesidade grau III, após suplementação de extrato de chá verde proposta, aumentaram a utilização de lipídios como substrato energético e diminuíram a utilização de carboidrato quando comparado ao controle. Em estudo com pacientes submetidos ao jejum, Dulloo, Samec e Seydoux (2001) verificaram aumento da expressão de *UCP3* no músculo esquelético com aumento da oxidação de gordura, sugerindo termogênese adaptativa, uma vez que o lipídio passa a ser a principal fonte de combustível e permite a preservação da glicose para órgãos e tecidos que necessitam exclusivamente desse nutriente como substrato energético. Isto contribui na justificativa dos resultados encontrados no presente estudo.

Ao analisarmos o gene *PLIN1* neste estudo, observamos que as mulheres com obesidade grau III apresentam maior expressão quando comparadas às com peso dentro da faixa de normalidade. Corroborando com Kern et al. (2004) que também verificaram maior expressão desse gene em indivíduos com obesidade. Porém, nossos dados são contrários aos de Wang et al. (2003), que encontraram menor expressão do gene *PLIN1* em indivíduos com obesidade.

Este estudo mostrou que a expressão do *PLIN1* se correlacionou negativamente com as variáveis antropométricas e de composição corporal e positivamente com TMR e ingestão energética. A perilipina inibe a lipólise basal e

promove o armazenamento de TG pela limitação do acesso da lipase. As variantes genéticas do *PLIN* afetam o conteúdo proteico e a taxa lipolítica dos adipócitos (MARCINKIEWICZ et al., 2006). O polimorfismo *PLIN1* 11482G>A está associado à resistência da perda de peso em mulheres (CORELLA et al., 2005).

Quanto à expressão do gene *PPARG2*, este estudo mostrou um aumento em mulheres com obesidade grau III comparado às eutróficas, dados que corroboram com os de Janani e Kumari (2015) que relacionaram baixa expressão do gene em questão com efeitos antiobesidade. Entretanto, Kursawe et al. (2010) observaram redução da expressão de *PPARG2* em adolescentes com esteatose hepática. Neste estudo, o *PPARG2* se correlacionou negativamente com o peso e massa gorda e positivamente com a taxa metabólica de repouso. Já Kursawe et al. (2010) observaram correlação negativa entre a expressão de *PPARG2* e a gordura no fígado e resistência à insulina.

Assim como o *PPARG2*, este estudo averiguou também aumento da expressão de *ADRB3* em mulheres com obesidade grau III. O sistema adrenérgico desempenha papel no balanço energético por meio da estimulação da termogênese e mobilização lipídica no tecido adiposo. Contudo, nosso estudo não mostrou modificação do gene em questão após suplementação de extrato de chá verde. Contrapondo, Choo (2003) verificou *in vivo* que o chá verde inibe o incremento no ganho da gordura corporal induzida por uma dieta hiperlipídica (30% de gordura) e esse resultado é devido à redução da digestibilidade e do aumento da termogênese no tecido adiposo marrom por meio da ativação do β -adrenoreceptor.

Todos os estudos possuem limitações que permeiam o campo da teoria, prática ou metodologia. Neste, considera que o tamanho amostral, o tempo proposto de suplementação e a concentração de GEGC administrada possam ter interferido nos resultados. Os dados brutos revelaram que 27,3% da amostra estudada perdeu peso, portanto, questiona-se se o aumento da amostra revelaria maior eficácia do chá verde, ou ainda, se a suplementação superior a oito semanas, maiores concentrações de catequinas ou a utilização da mistura cafeína e catequina poderiam desencadear a perda de peso, alteração da composição corporal ou expressão gênica.

Este estudo situado no âmbito da genômica nutricional revela a possibilidade de análise da nutrigenômica, uma vez que ajuda elucidar o impacto das catequinas do chá verde na expressão gênica. No entanto, surge a dúvida se as pacientes que

apresentaram perda de peso possuem variações genéticas que influenciaram no resultado do tratamento, e desse modo, essa seria a contribuição da nutrigenética. Nesse contexto, reforça-se a necessidade da individualização do tratamento e pesquisas futuras poderiam classificar os indivíduos em responsivos e não responsivos à suplementação de chá verde.

Conclusão

8. CONCLUSÃO

A suplementação de extrato de chá verde descafeinado, contendo 450 mg de GEGC durante 8 semanas, em mulheres com obesidade grau III, não é capaz de alterar variáveis antropométricas, taxa metabólica de repouso, oxidação de substrato, glicemia e lipidograma, contudo, a suplementação proposta é segura quanto à função hepática. A ineficácia do chá verde nos parâmetros clínicos no presente estudo pode ser explicada pela ausência de alteração na expressão dos genes *UCP1*, *UCP2*, *PLIN1*, *PPARG* e *ADRB3*, somado ao aumento da expressão de *UCP3*, que pode funcionar como mecanismo de adaptação que ajudaria elucidar a manutenção do peso corporal. Não há associação entre taxa metabólica de repouso, oxidação de substrato e expressão dos genes selecionados, contudo, o gene *UCP2* parece ser capaz de modular o peso corporal e massa gorda e, ainda ser regulado pela ingestão energética em mulheres com obesidade grau III antes da suplementação de chá verde. Portanto, a partir destes resultados, nesta casuística sob as condições estabelecidas, não se recomenda a suplementação, ou a ingestão de chá verde descafeinado como coadjuvante do tratamento nutricional da obesidade grau III.

Referências

9. REFERÊNCIAS

- ABE, K. et al. Effects of chronic ingestion of catechin-rich green tea on hepatic gene expression of gluconeogenic enzymes in rats. **Biomed. Res.**, Shizuoka, v. 30, n. 1, p. 25-9, 2009.
- AHMADIAN, M. et al. PPARgamma signaling and metabolism: the good, the bad and the future. **Nat. Med.**, California, v. 19, n. 5, p. 557-66, May 2013.
- ANDERSEN, G. et al. The frequent UCP2- 866G> A polymorphism protects against insulin resistance and is associated with obesity: a study of obesity and related metabolic traits among 17 636 Danes. **Int. J. Obes.**, Gentofte, v. 37, n. 2, p. 175-81, 2013.
- ARAÚJO, L. M. B.; LIMA, D. S.; DALTRO, C. Association of gamma-glutamyl transferase and the metabolic syndrome in obese women. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, Salvador, v. 49, n. 4, p. 557-62, 2005.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NUTROLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NUTRIÇÃO PARENTERAL E ENTERAL; SOCIEDADE BRASILEIRA DE CLÍNICA MÉDICA. Gasto energético avaliado pela calorimetria indireta. São Paulo: Associação Médica Brasileira; Brasília, DF: Conselho Federal de Medicina, 2009. (Projeto Diretrizes).
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Diretrizes Brasileiras de Obesidade**. 3. ed. Itapevi: AC Farmacêutica, 2009.
- AUVICHAYAPAT, P. et al. Effectiveness of green tea on weight reduction in obese Thais: a randomized, controlled trial. **Physiol. Behav.**, Khon Kaen, v. 93, n. 3, p. 486-91, 2008.
- AZZU, V.; BRAND, M. D. The on-off switches of the mitochondrial uncoupling proteins. **Trends Biochem. Sci.**, Cambridge, v. 35, n. 5, p. 298-307, May 2010.
- BALADIA, E. et al. Efecto del consumo de té verde o extractos de té verde en el peso y en la composición corporal; revisión sistemática y metaanálisis. **Nutr. Hospital.**, v. 29, n. 3, p. 479-90, 2013.
- BALENTINE, D. A.; WISEMAN, S. A.; BOUWENS, L. C. The chemistry of tea flavonoids. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, Vlaardingen, v. 37, n. 8, p. 693-704, Dec. 1997.
- BARTELS, C. L.; MILLER, S. J. Dietary supplements marketed for weight loss. **Nutr. Clin. Pract.**, Missoula, v. 18, n. 2, p. 156-69, Apr. 2003.
- BEHARY, P. et al. Obesity: lifestyle management, bariatric surgery, drugs, and the therapeutic exploitation of gut hormones. **Postgrad. Med.**, Hammersmith, v. 127, n. 5, p. 494-502, Jun. 2015.
- BERGER, J.; MOLLER, D. E. The mechanisms of action of PPARs. **Annu. Rev. Med.**, Rahway, v. 53, p. 409-35, 2002.
- BÉRUBÉ-PARENT, S. et al. Effects of encapsulated green tea and Guarana extracts containing a mixture of epigallocatechin-3-gallate and caffeine on 24 h energy expenditure and fat oxidation in men. **Br. J. Nutr.**, Québec, v. 94, n. 3, p. 432, 2005.
- BOND, R. A.; CLARKE, D. E. Agonist and antagonist characterization of a putative adrenoceptor with distinct pharmacological properties from the alpha- and beta-subtypes. **Br. J. Pharmacol.**, Houston, v. 95, n. 3, p. 723-34, Nov. 1988.

BOUCHARD, C. et al. Linkage between markers in the vicinity of the uncoupling protein 2 gene and resting metabolic rate in humans. **Hum. Mol. Genet.**, Québec, v. 6, n. 11, p. 1887-9, 1997.

BLUNDELL, J. E.; GILLETT, A. Control of food intake in the obese. **Obes. Res.**, Leeds, v. 9, p. 263S-270S, 2001. Supplement 4.

BRASAEMLE, D. L. et al. Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. **J. Biol. Chem.**, Philadelphia, v. 275, n. 49, p. 38486-93, Dec. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL)**. Brasília, DF, 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2014.pdf>. Acesso em: 29 fev. 2016.

BRONDANI, L. A. et al. The role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, Porto Alegre, v. 56, n. 4, p. 215-25, Jun. 2012.

BYLUND, D. B. Subtypes of alpha 2-adrenoceptors: pharmacological and molecular biological evidence converge. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 9, n. 10, p. 356-61, Oct. 1988.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Teor de cafeína em cafés brasileiros. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 421-4, 1998.

CHAN, C. C. W. et al. Effects of Chinese green tea on weight, and hormonal and biochemical profiles in obese patients with polycystic ovary syndrome—a randomized placebo-controlled trial. **J. Soc. Gynecol. Invest.**, Hong Kong, v. 13, n. 1, p. 63-8, 2006.

CHAN, C. Y. et al. (-)-Epigallocatechin-3-gallate blocks 3T3-L1 adipose conversion by inhibition of cell proliferation and suppression of adipose phenotype expression. **Life Sci.**, Hong Kong, v. 89, n. 21-22, p. 779-85, Nov. 2011.

CHANTRE, P.; LAIRON, D. Recent findings of green tea extract AR25 (Exolise) and its activity for the treatment of obesity. **Phytomedicine**, Carros, v. 9, n. 1, p. 3-8, 2002.

CHEN, D. et al. Inhibition of human liver catechol-O-methyltransferase by tea catechins and their metabolites: structure-activity relationship and molecular-modeling studies. **Biochem. Pharmacol.**, NJ, v. 69, n. 10, p. 1523-31, May 2005.

CHEN, I. et al. Therapeutic effect of high-dose green tea extract on weight reduction: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Clin. Nutr.**, Taipei, v. 35, n. 3, p. 592-9, 2016.

CHEN, N. et al. Green tea, black tea, and epigallocatechin modify body composition, improve glucose tolerance, and differentially alter metabolic gene expression in rats fed a high-fat diet. **Nutr. Res.**, Melbourne, v. 29, n. 11, p. 784-93, 2009.

CHENG, T. O. Will green tea be even better than black tea to increase coronary flow velocity reserve? **Am. J. Cardiol.**, Washington, v. 94, n. 9, p. 1223, Nov. 2004.

CHENG, T. O. All teas are not created equal: the Chinese green tea and cardiovascular health. **Int. J. Cardiol.**, Washington, v. 108, n. 3, p. 301-8, Apr. 2006.

- CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. **Nat. Protoc.**, Cincinnati, v. 1, n. 2, p. 581-5, 2006.
- CHOQUET, H.; MEYRE, D. Genetics of obesity: what have we learned? **Curr. Genomics**, San Francisco, v. 12, n. 3, p. 169-79, May 2011.
- CHOO, J. J. Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through β -adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. **J. Nutr. Biochem.**, Kunsan, v. 14, n. 11, p. 671-6, 2003.
- CHOW, H. H. et al. Effects of dosing condition on the oral bioavailability of green tea catechins after single-dose administration of Polyphenon E in healthy individuals. **Clin. Cancer Res.**, Tucson, v. 11, n. 12, p. 4627-33, Jun. 2005.
- CORELLA, D. et al. Obese subjects carrying the 11482G> A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Boston, v. 90, n. 9, p. 5121-6, 2005.
- CLARK, D. et al. Differences in energy metabolism between normal weight 'large-eating' and 'small-eating' women. **Br. J. Nutr.**, Adelaide, v. 68, n. 1, p. 31-44, 1992.
- CLARK, D. et al. Energy metabolism in free-living, 'large-eating' and 'small-eating' women: studies using H₂O. **Br. J. Nutr.**, v. 72, n. 1, p. 21-31, 1994.
- CLIFFORD, M. A nomenclature for phenols with special reference to tea. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 41, p. 393-397, 2001. Supplement.
- COOPER, R.; MORRÉ, D. J.; MORRÉ, D. M. Medicinal benefits of green tea: Part I. Review of noncancer health benefits. **J. Altern. Complement. Med.**, Los Altos, v. 11, n. 3, p. 521-8, Jun. 2005.
- CUI, Y. et al. Expression modification of uncoupling proteins and MnSOD in retinal endothelial cells and pericytes induced by high glucose: the role of reactive oxygen species in diabetic retinopathy. **Exp. Eye Res.**, Shanghai, v. 83, n. 4, p. 807-16, Oct. 2006.
- CURIONI, C. C.; LOURENCO, P. M. Long-term weight loss after diet and exercise: a systematic review. **Int. J. Obes. (Lond.)**, London, v. 29, n. 10, p. 1168-74, Oct. 2005.
- DALGAARD, L. T. et al. Mutational analysis of the UCP2 core promoter and relationships of variants with obesity. **Obes. Res.**, Copenhagen, v. 11, n. 11, p. 1420-7, Nov. 2003.
- DANSINGER, M. L. et al. Comparison of the Atkins, Ornish, Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease risk reduction: a randomized trial. **JAMA**, Chicago, v. 293, n. 1, p. 43-53, Jan. 2005.
- DE PONTI, F. et al. Atypical beta-adrenoceptors mediating relaxation in the human colon: functional evidence for beta3-rather than beta4-adrenoceptors. **Pharmacol. Res.**, Pavia, v. 39, n. 5, p. 345-8, May 1999.
- DEPIERI, T. Z. et al. UCP-3: regulação da expressão gênica no músculo esquelético e possível relação com o controle do peso corporal. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, Presidente Prudente, v. 48, n. 3, p. 337-44, Jun. 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.**, São Paulo, v. 93, n. 12, p. 4933-40, Dec. 2008.
- DERAM, S.; VILLARES, S. M. Genetic variants influencing effectiveness of weight loss strategies. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, São Paulo, v. 53, n. 2, p. 129-38, Mar. 2009.
- DIANO, S.; HORVATH, T. L. Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) in glucose and lipid metabolism. **Trends Mol. Med.**, New Haven, v. 18, n. 1, p. 52-8, Jan. 2012.
- DIEPVENS, K. et al. Metabolic effects of green tea and of phases of weight loss. **Physiol. Behav.**, Maastricht, v. 87, n. 1, p. 185-91, 2006.
- DOUKETIS, J. D. et al. Systematic review of long-term weight loss studies in obese adults: clinical significance and applicability to clinical practice. **Int. J. Obes. (Lond.)**, London, v. 29, n. 10, p. 1153-67, Oct. 2005.
- DREYER, C. et al. Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. **Cell**, Tübingen, v. 68, n. 5, p. 879-87, Mar. 1992.
- DUFRESNE, C. J.; FARNWORTH, E. R. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. **J. Nutr. Biochem.**, Quebec, v. 12, n. 7, p. 404-21, Jul. 2001.
- DULLOO, A. G. Spicing fat for combustion. **Br. J. Nutr.**, Geneva, v. 80, n. 6, p. 493-4, Dec. 1998.
- DULLOO, A. G. et al. Efficacy of a green tea extract rich in catechin polyphenols and caffeine in increasing 24-h energy expenditure and fat oxidation in humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, Geneva, v. 70, n. 6, p. 1040-5, Dec. 1999.
- DULLOO, A. G. et al. Green tea and thermogenesis: interactions between catechin-polyphenols, caffeine and sympathetic activity. **Int. J. Obes.**, Fribourg, v. 24, n. 2, p. 252-8, 2000.
- DULLOO, A. G.; SAMEC, S.; SEYDOUX, J. Uncoupling protein 3 and fatty acid metabolism. **Biochem. Soc. Trans.**, Fribourg, v. 29, n. 6, p. 785-91, 2001.
- EVANS, R. M.; BARISH, G. D.; WANG, Y. X. PPARs and the complex journey to obesity. **Nat. Med.**, California, v. 10, n. 4, p. 355-61, Apr. 2004.
- FARIA, S.L. et al. Energy expenditure before and after Roux-en-Y gastric bypass. **Obesity surgery**, Brasília v. 22, n. 9, p. 1450-1455, 2012.
- FEIGE, J. N. et al. From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. **Prog. Lipid Res.**, Lausanne, v. 45, n. 2, p. 120-59, Mar. 2006.
- FLATT, J. P.; TREMBLAY, A. Energy expenditure and substrate oxidation. In: BRAY, G. A.; BOUCHARD, C.; JAMES, W. P. T. (Eds.). **Handbook of obesity**. New York: Marcel Dekker, 1998. p. 513-37.
- FONSECA, P. H. S.; DUARTE, M. F. S. Equações que estimam a taxa metabólica de repouso em adolescentes: história e validade. **Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum.**, v. 10, n. 4, p. 405-11, 2008.

- FRANK, J. et al. Daily consumption of an aqueous green tea extract supplement does not impair liver function or alter cardiovascular disease risk biomarkers in healthy men. **J. Nutr.**, Kiel, v. 139, n. 1, p. 58-62, 2009.
- FRANKENFIELD, D. C.; ASHCRAFT, C. M. Estimating energy needs in nutrition support patients. **JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.**, Hershey, v. 35, n. 5, p. 563-70, Sep. 2011.
- FRAYN, K. N. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. **J. Appl. Physiol.**, v. 55, n. 2, p. 628-34, 1983.
- FRIEDMAN, J. M.; HALAAS, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. **Nature**, London, v. 395, n. 6704, p. 763-70, Oct. 1998.
- FROOD, S. et al. Obesity, complexity, and the role of the health system. **Curr. Obes. Rep.**, Burnaby, v. 2, p. 320-6, 2013.
- FURUYASHIKI, T. et al. Tea catechin suppresses adipocyte differentiation accompanied by down-regulation of PPAR γ 2 and C/EBP α in 3T3-L1 cells. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 68, n. 11, p. 2353-9, 2004.
- GARLID, K. D. et al. How do uncoupling proteins uncouple? **Biochim. Biophys. Acta**, Amsterdam, v. 1459, n. 2, p. 383-9, 2000.
- GAVILÁN, J. C. et al. Fitoterapia y hepatitis. **Rev. Clin. Esp.**, Barcelona, v. 199, n. 10, p. 693-4, 1999.
- GOGLIA, F.; SKULACHEV, V. P. A function for novel uncoupling proteins: antioxidant defense of mitochondrial matrix by translocating fatty acid peroxides from the inner to the outer membrane leaflet. **FASEB J.**, Benevento, v. 17, n. 12, p. 1585-91, 2003.
- GREENBERG, A. S. et al. Perilipin, a major hormonally regulated adipocyte-specific phosphoprotein associated with the periphery of lipid storage droplets. **J. Biol. Chem.**, Maryland, v. 266, n. 17, p. 11341-6, Jun. 1991.
- GREENER, J.; DOUGLAS, F.; VAN TEIJLINGEN, E. More of the same? Conflicting perspectives of obesity causation and intervention amongst overweight people, health professionals and policy makers. **Soc. Sci. Med.**, Nottingham, v. 70, n. 7, p. 1042-9, Apr. 2010.
- GUTMAN, R. L.; RYU, B.-H. Rediscovering tea: an exploration of the scientific literature. **HerbalGram**, Austin, n. 37, p. 33, 1996.
- HARBOWY, M. E. et al. Tea chemistry. **Crit. Rev. Plant Sci.**, v. 16, n. 5, p. 415-80, 1997.
- HARA, Y. et al. Botany. **Food Rev. Int.**, Abington, v. 11, n. 3, p. 371-4, 1995.
- HARADA, U. et al. Effects of the long-term ingestion of tea catechins on energy expenditure and dietary fat oxidation in healthy subjects. **J. Health Sci.**, v. 51, n. 2, p. 248-52, 2005.
- HASE, T. et al. Anti-obesity effects of tea catechins in humans. **J. Oleo Sci.**, v. 50, n. 7, p. 599-605, 2001.
- HANHINEVA, K. et al. Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 11, n. 4, p. 1365-402, 2010.

- HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. **Food Technol.**, Chicago, v. 52, n. 11, p. 63-70, 1998.
- HASLER, C. M. Functional foods: benefits, concerns and challenges - a position paper from the American Council on Science and Health. **J. Nutr.**, v. 132, n. 12, p. 3772-81, 2002.
- HEBE BRAND, J.; HINNEY, A. Environmental and genetic risk factors in obesity. **Child Adolesc. Psychiatr. Clin. North Am.**, Essen, v. 18, n. 1, p. 83-94, 2009.
- HEBE BRAND, J. et al. Perspectives: molecular genetic research in human obesity. **Obes. Rev.**, Marburg, v. 4, n. 3, p. 139-46, 2003.
- HESKETH, J. et al. Nutrient-gene interactions in benefit-risk analysis. **Br. J. Nutr.**, Newcastle, v. 95, n. 6, p. 1232-6, Jun. 2006.
- HODGSON, A. B.; RANDELL, R. K.; JEUKENDRUP, A. E. The effect of green tea extract on fat oxidation at rest and during exercise: evidence of efficacy and proposed mechanisms. **Adv. Nutr.**, Birmingham, v. 4, n. 2, p. 129-40, 2013.
- HODGSON, J. M. et al. Is reversal of endothelial dysfunction by tea related to flavonoid metabolism? **Br. J. Nutr.**, Perth, v. 95, n. 1, p. 14-7, 2006.
- HSU, C. et al. Effect of green tea extract on obese women: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Clin. Nutr.**, Taipei, v. 27, n. 3, p. 363-70, 2008.
- HUANG, J. et al. Green tea polyphenols alleviate obesity in broiler chickens through the regulation of lipid-metabolism-related genes and transcription factor expression. **J. Agric. Food Chem.**, Anhui, v. 61, n. 36, p. 8565-72, 2013.
- HURSEL, R. et al. The effects of catechin rich teas and caffeine on energy expenditure and fat oxidation: a meta-analysis. **Obes. Rev.**, Maastricht, v. 12, n. 7, p. e573-e581, 2011.
- IGAWA, Y. et al. Functional and molecular biological evidence for a possible beta3-adrenoceptor in the human detrusor muscle. **Br. J. Pharmacol.**, Matsumoto, v. 126, n. 3, p. 819-25, Feb. 1999.
- INSEL, P. A. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Adrenergic receptors-evolving concepts and clinical implications. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 334, n. 9, p. 580-5, Feb. 1996.
- ISSEMAN, I.; GREEN, S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. **Nature**, London, v. 347, n. 6294, p. 645-50, Oct. 1990.
- 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. 243-9, 1998.
- JANANI, C.; KUMARI, B. R. PPAR gamma gene—a review. **Diabetes Metab. Syndr.**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 46-50, 2015.
- JANSSENS, P. L. H. R.; HURSEL, R.; WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. Long-term green tea extract supplementation does not affect fat absorption, resting energy expenditure, and body composition in adults. **J. Nutr.**, Rockville, v. 145, n. 5, p. 864-70, 2015.

JANSSENS, P. L. H. R.; HURSEL, R.; WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. Nutraceuticals for body-weight management: the role of green tea catechins. **Physiol. Behav.**, New York, v. 162, p. 83-7, 2016.

JAWORSKI, K. et al. Regulation of triglyceride metabolism. IV. Hormonal regulation of lipolysis in adipose tissue. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, Berkeley, v. 293, n. 1, p. G1-4, Jul. 2007.

JÉQUIER, E.; SCHUTZ, Y. Resting energy expenditure, thermic effect of food, and total energy expenditure. In: BRAY, G. A.; BOUCHARD, C. (Eds.). **Handbook of obesity, etiology and pathophysiology**. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 2004. p. 615-29.

JEZEK, P. Possible physiological roles of mitochondrial uncoupling proteins--UCPn. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.**, Prague, v. 34, n. 10, p. 1190-206, Oct. 2002.

JIA, J. J. et al. The polymorphisms of UCP2 and UCP3 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. **Obes. Rev.**, Kunming, v. 10, n. 5, p. 519-26, Sep. 2009.

KAJIMOTO, O. et al. Tea catechins with a galloyl moiety reduce body weight and fat. **J. Health Sci.**, v. 51, n. 2, p. 161-71, 2005.

KAVANAGH, K. T. et al. Green tea extracts decrease carcinogen-induced mammary tumor burden in rats and rate of breast cancer cell proliferation in culture. **J. Cell. Biochem.**, Boston, v. 82, n. 3, p. 387-98, 2001.

KERN, P. A. et al. Perilipin expression in human adipose tissue is elevated with obesity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Arkansas, v. 89, n. 3, p. 1352-8, Mar. 2004.

KHAN, N.; MUKHTAR, H. Tea polyphenols for health promotion. **Life Sci.**, Madison, v. 81, n. 7, p. 519-33, Jul. 2007.

KIM, H. et al. (-) Epigallocatechin gallate suppresses the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes through transcription factors FoxO1 and SREBP1c. **Cytotechnology**, Ibaraki, v. 62, n. 3, p. 245-55, Jul. 2010.

KINTSCHER, U.; LAW, R. E. PPARgamma-mediated insulin sensitization: the importance of fat versus muscle. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, Berlin, v. 288, n. 2, p. E287-91, Feb. 2005.

KLAUS, S. et al. Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. **Int. J. Obes.**, Nuthetal, v. 29, n. 6, p. 615-23, 2005.

KLEIN, S. et al. Clinical implications of obesity with specific focus on cardiovascular disease: a statement for professionals from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism: endorsed by the American College of Cardiology Foundation. **Circulation**, v. 110, n. 18, p. 2952-67, Nov. 2004.

KLIEWER, S. A. et al. Differential expression and activation of a family of murine peroxisome proliferator-activated receptors. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, CA, v. 91, n. 15, p. 7355-9, Jul. 1994.

KRAUSS, S.; ZHANG, C. Y.; LOWELL, B. B. The mitochondrial uncoupling-protein homologues. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, v. 6, n. 3, p. 248-61, Mar. 2005.

- KU, H. C. et al. Green tea (-)-epigallocatechin gallate inhibits IGF-I and IGF-II stimulation of 3T3-L1 preadipocyte mitogenesis via the 67-kDa laminin receptor, but not AMP-activated protein kinase pathway. **Mol. Nutr. Food Res.**, Jhongli, v. 56, n. 4, p. 580-92, Apr. 2012.
- KUMANYIKA, S. et al. Obesity prevention: the case for action. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 26, n. 3, p. 425-36, Mar. 2002.
- KURSAWE, R. et al. Downregulation of adipon and ppar γ 2 gene-expression in subcutaneous adipose tissue of obese adolescents with hepatic steatosis. **Obesity**, Connecticut, v. 18, p. 1911-7, 2010.
- LAKE, A.; TOWNSHEND, T. Obesogenic environments: exploring the built and food environments. **J. R. Soc. Promot. Health**, Newcastle, v. 126, n. 6, p. 262-7, Nov. 2006.
- LAMARÃO, R. C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Rev. Nutr.**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 257-69, 2009.
- LANDS, A. M. et al. Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. **Nature**, London, v. 214, n. 5088, p. 597-8, May 1967.
- LEE, K. Transactivation of peroxisome proliferator-activated receptor alpha by green tea extracts. **J. Vet. Sci.**, Jeju, v. 5, n. 4, p. 325-30, 2004.
- LEE, M. S.; KIM, C. T.; KIM, Y. Green tea (-)-epigallocatechin-3-gallate reduces body weight with regulation of multiple genes expression in adipose tissue of diet-induced obese mice. **Ann. Nutr. Metab.**, Seoul, v. 54, n. 2, p. 151-7, 2009.
- LEUNG, L. K. et al. Theaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. **J. Nutr.**, Hong Kong, v. 131, n. 9, p. 2248-51, Sep. 2001.
- LI, Y. et al. Effects of tea or tea extract on metabolic profiles in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of ten randomized controlled trials. **Diabetes Metab. Res. Rev.**, Harbin, v. 32, n. 1, p. 2-10, 2016.
- MAHADIK, S. R. et al. Uncoupling protein-2 (UCP2) gene expression in subcutaneous and omental adipose tissue of Asian Indians: relationship to adiponectin and parameters of metabolic syndrome. **Adipocyte**, Mumbai, v. 1, n. 2, p. 101-7, 2012.
- MARCINKIEWICZ, A. et al. The phosphorylation of serine 492 of perilipin a directs lipid droplet fragmentation and dispersion. **J. Biol. Chem.**, New Jersey, v. 281, n. 17, p. 11901-9, 2006.
- 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: 05 abr. 2016.
- MAZZANTI, G. et al. Hepatotoxicity from green tea: a review of the literature and two unpublished cases. **Eur. J. Clin. Pharmacol.**, Rome, v. 65, n. 4, p. 331-41, 2009.
- MEDINA-GOMEZ, G. et al. PPAR gamma 2 prevents lipotoxicity by controlling adipose tissue expandability and peripheral lipid metabolism. **PLoS Genet.**, Cambridge, v. 3, n. 4, p. e64, Apr. 2007.

MELO, C. M.; TIRAPEGUI, J.; RIBEIRO, S. M. Gasto energético corporal: conceitos, formas de avaliação e sua relação com a obesidade. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, São Paulo, v. 52, n. 3, p. 452-64, Apr. 2008.

MIELGO-AYUSO, J. et al. Effects of dietary supplementation with epigallocatechin-3-gallate on weight loss, energy homeostasis, cardiometabolic risk factors and liver function in obese women: randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Br. J. Nutr.**, Vitoria, v. 111, n. 7, p. 1263-71, Apr. 2014.

MILLET, L. et al. Increased uncoupling protein-2 and-3 mRNA expression during fasting in obese and lean humans. **J. Clin. Investig.**, v. 100, n. 11, p. 2665, 1997.

MONSALVE, F. A. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor targets for the treatment of metabolic diseases. **Mediators Inflamm.**, Talca, v. 2013, p. 549627, 2013.

MURASE, T. et al. Beneficial effects of tea catechins on diet-induced obesity: stimulation of lipid catabolism in the liver. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Dis.**, Tochigi, v. 26, n. 11, 2002.

MUST, A.; MCKEOWN, N. M. The disease burden associated with overweight and obesity. In: DE GROOT, L. J. et al. (Eds.). **Endotext**. South Dartmouth: MDtext.com, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279095/>>. Acesso em: 12 fev 16.

NAGAO, T. et al. Ingestion of a tea rich in catechins leads to a reduction in body fat and malondialdehyde- modified LDL in men. **Am. J. Clin. Nutr.**, Tokyo, v. 81, n. 1. p. 122-9, 2005.

NAGAO, T.; HASE, T.; TOKIMITSU, I. A green tea extract high in catechins reduces body fat and cardiovascular risks in humans. **Obesity**, Tokyo, v. 15, n. 6, p. 1473-83, 2007.

NANTZ, M. P. et al. Standardized capsule of *Camellia sinensis* lowers cardiovascular risk factors in a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Nutrition**, Gainesville, v. 25, n. 2, p. 147-54, 2009.

NG, M. et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet**, London, v. 384, n. 9945, p. 766-81, Aug. 2014.

NISHIU, J.; TANAKA, T.; NAKAMURA, Y. Isolation and chromosomal mapping of the human homolog of perilipin (PLIN), a rat adipose tissue-specific gene, by differential display method. **Genomics**, Tokyo, v. 48, n. 2, p. 254-7, Mar. 1998.

NONINO CB. et al. Influence of meal time on salivary circadian cortisol rhythms and weight loss in obese women. **Nutrition**; 23:385-391, 2007.

OAK, M. H.; EL BEDOUI, J.; SCHINI-KERTH, V. B. Antiangiogenic properties of natural polyphenols from red wine and green tea. **J. Nutr. Biochem.**, v. 16, n. 1, p. 1-8, Jan. 2005.

OBERKOFER, H. et al. Uncoupling protein-2 gene: reduced mRNA expression in intraperitoneal adipose tissue of obese humans. **Diabetologia**, Salzburg, v. 41, n. 8, p. 940-6, 1998.

OLIVEIRA, B. A. et al. UCP1 and UCP3 expression is associated with lipid and carbohydrate oxidation and body composition. **PloS One**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 3, p. e0150811, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Obesidade**: prevenção e controle e epidemia global. Relatório da consultoria da OMS. São Paulo: Roca, 2004.

ORDOVAS, J. M.; ROBERTSON, R.; CLEIRIGH, E. N. Gene-gene and gene-environment interactions defining lipid-related traits. **Curr. Opin. Lipidol.**, Boston, v. 22, n. 2, p. 129-36, Apr. 2011.

OSADA, K. et al. Tea catechins inhibit cholesterol oxidation accompanying oxidation of low density lipoprotein in vitro. **Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.**, Hirosaki, v. 128, n. 2, p. 153-64, Feb. 2001.

PALMATIER, M. A.; KANG, A. M.; KIDD, K. K. Global variation in the frequencies of functionally different catechol-O-methyltransferase alleles. **Biol. Psychiatry**, New Haven, v. 46, n. 4, p. 557-67, 1999.

PENA, S. D. et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PLoS One**, Belo Horizonte, v. 6, n. 2, p. e17063, 2011.

PHUNG, O. J. et al. Effect of green tea catechins with or without caffeine on anthropometric measures: a systematic review and meta-analysis. **Am. J. Clin. Nutr.**, Storrs, v. 91, n. 1, p. 73-81, Jan. 2010.

PI-SUNYER, X. The medical risks of obesity. **Postgrad. Med.**, v. 121, n. 6, p. 21-33, Nov. 2009.

RAO, M. S. et al. Prevention/reversal of choline deficiency-induced steatohepatitis by a peroxisome proliferator-activated receptor alpha ligand in rats. **In Vivo**, Chicago, v. 16, n. 2, p. 145-52, Mar.-Apr. 2002.

RAZQUIN, C.; MARTI, A.; MARTINEZ, J. A. Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPARGgamma. Approaches for personalized nutrition. **Mol. Nutr. Food Res.**, Navarra, v. 55, n. 1, p. 136-49, Jan. 2011.

REHRER, C. W. et al. Regional differences in subcutaneous adipose tissue gene expression. **Obesity (Silver Spring)**, Silver Spring, v. 20, n. 11, p. 2168-73, Nov. 2012.

REN, D. et al. PPARGgamma knockdown by engineered transcription factors: exogenous PPARGgamma2 but not PPARGgamma1 reactivates adipogenesis. **Genes Dev.**, Michigan, v. 16, n. 1, p. 27-32, Jan. 2002.

RICHARD, D.; PICARD, F. Brown fat biology and thermogenesis. **Front. Biosci.**, Quebec, v. 16, p. 1233-60, 2011.

RICQUIER, D.; KADER, J. C. Mitochondrial protein alteration in active brown fat: a sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoretic study. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 73, n. 3, p. 577-83, Dec. 1976.

RODRIGUEZ, S. K. et al. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate, inhibits vascular endothelial growth factor angiogenic signaling by disrupting the formation of a receptor complex. **Int. J. Cancer**, Boston, v. 118, n. 7, p. 1635-44, Apr. 2006.

ROHMER, F. **O livro do chá**. São Paulo: Aquariana, 2002.

ROZEC, B.; GAUTHIER, C. beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system: putative roles in human pathologies. **Pharmacol. Ther.**, Nantes, v. 111, n. 3, p. 652-73, Sep. 2006.

- RUMPLER, W. et al. Oolong tea increases metabolic rate and fat oxidation in men. **J. Nutr.**, Beltsville, v. 131, n. 11, p. 2848-52, Nov. 2001.
- SARMA, D. N. et al. Safety of green tea extracts. **Drug Saf.**, Rockville, v. 31, n. 6, p. 469-84, 2008.
- SALE, M. M. et al. The uncoupling protein 1 gene, UCP1, is expressed in mammalian islet cells and associated with acute insulin response to glucose in African American families from the IRAS Family Study. **BMC Endocr. Disord.**, Cidade, v. 7, p. 1, 2007.
- SALEH, M. C.; WHEELER, M. B.; CHAN, C. B. Uncoupling protein-2: evidence for its function as a metabolic regulator. **Diabetologia**, Charlottetown, v. 45, n. 2, p. 174-87, Feb. 2002.
- SALTZMAN, E.; ROBERTS, S. B. The role of energy expenditure in energy regulation: findings from a decade of research. **Nutr. Rev.**, Boston, v. 53, n. 8, p. 209-20, Aug. 1995.
- SANCHIS, D. et al. BMCP1, a novel mitochondrial carrier with high expression in the central nervous system of humans and rodents, and respiration uncoupling activity in recombinant yeast. **J. Biol. Chem.**, Meudon, v. 273, n. 51, p. 34611-5, Dec. 1998.
- SARTIPPOUR, M. R. et al. Green tea inhibits vascular endothelial growth factor (VEGF) induction in human breast cancer cells. **J. Nutr.**, Los Angeles, v. 132, n. 8, p. 2307-11, Aug. 2002.
- SATO, Y. et al. Possible contribution of green tea drinking habits to the prevention of stroke. **Tohoku J. Exp. Med.**, Sendai, v. 157, n. 4, p. 337-43, Apr. 1989.
- SCAGLIUSI, F. B.; LANCHÁ JÚNIOR, A. H. Subnotificação da ingestão energética na avaliação do consumo alimentar. **Rev. Nutr.**, São Paulo, v. 16, n. 4, p. 471-81, 2003.
- SCHNEIDER, P.; MEYER, F. O papel do exercício físico na composição corporal e na taxa metabólica basal de meninos adolescentes obesos. **R. Bras. Ciênc. Mov.**, v. 15, n. 1, p. 101-7, 2007.
- SCHRAUWEN, P.; SARIS, W. H.; HESSELINK, M. K. An alternative function for human uncoupling protein 3: protection of mitochondria against accumulation of nonesterified fatty acids inside the mitochondrial matrix. **FASEB J.**, Maastricht, v. 15, n. 13, p. 2497-502, 2001.
- SCHRAUWEN, P. et al. A novel polymorphism in the proximal UCP3 promoter region: effect on skeletal muscle UCP3 mRNA expression and obesity in male non-diabetic Pima Indians. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, Maastricht, v. 23, n. 12, p. 1242-5, Dec. 1999.
- SHRESTHA, S. et al. Dietary green tea extract lowers plasma and hepatic triglycerides and decreases the expression of sterol regulatory element-binding protein-1c mRNA and its responsive genes in fructose-fed, ovariectomized rats. **J. Nutr.**, Storrs, v. 139, n. 4, p. 640-5, 2009.
- SCHUTZ, Y. et al. Role of fat oxidation in the long-term stabilization of body weight in obese women. **Am. J. Clin. Nutr.**, Lausanne, v. 55, n. 3, p. 670-4, 1992.
- SCOFIELD, M. A.; DEUPREE, J. D.; BYLUND, D. B. Adrenergic receptor genes: cDNA and genomic library construction. **Mol. Biotechnol.**, California, v. 21, n. 2, p. 171-97, Jun. 2002.
- SETIAWAN, V. W. et al. Protective effect of green tea on the risks of chronic gastritis and stomach cancer. **Int. J. Cancer**, Los Angeles, v. 92, n. 4, p. 600-4, May 2001.

- SHIWAKU, K. et al. Difficulty in losing weight by behavioral intervention for women with Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, Shimane, v. 27, n. 9, p. 1028-36, Sep. 2003.
- SIMONSON, D. C.; DEFRONZO, R. A. Indirect calorimetry: methodological and interpretative problems. **Am. J. Physiol.**, Boston, v. 258, n. 3 Pt 1, p. E399-412, Mar. 1990.
- SLUSE, F. E. et al. Mitochondrial UCPs: new insights into regulation and impact. **Biochim. Biophys. Acta**, Liege, v. 1757, n. 5-6, p. 480-5, May-Jun. 2006.
- SMITH, C. E.; ORDOVAS, J. M. Update on perilipin polymorphisms and obesity. **Nutr. Rev.**, Boston, v. 70, n. 10, p. 611-21, Oct. 2012.
- SOUZA, B. M. et al. The role of uncoupling protein 2 (UCP2) on the development of type 2 diabetes mellitus and its chronic complications. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, Porto Alegre, v. 55, n. 4, p. 239-48, Jun. 2011.
- SUEN, V. M. et al. Effect of hypocaloric meals with different macronutrient compositions on energy metabolism and lung function in obese women. **Nutrition**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 9, p. 703-7, Sep. 2003.
- SUEN, V. M. M.; UNAMUNO, M. R.; MARCHINI, J. S. Breath ¹³CO₂ enrichment in obese women during the fasting and the fed states. **Nutr. Res.**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 9, p. 1153-63, 2003.
- SUEOKA, N. et al. A new function of green tea: prevention of lifestyle-related diseases. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, New York, v. 928, p. 274-80, Apr. 2001.
- SULIBURSKA, J. et al. Effects of green tea supplementation on elements, total antioxidants, lipids, and glucose values in the serum of obese patients. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 149, n. 3, p. 315-22, Dec. 2012.
- SURWIT, R. S. et al. Diet-induced changes in uncoupling proteins in obesity-prone and obesity-resistant strains of mice. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, Durham, v. 95, n. 7, p. 4061-5, 1998.
- TAVARES, V.; HIRATA, M. H.; HIRATA, R. D. Receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (Ppar γ): estudo molecular na homeostase da glicose, metabolismo de lipídeos e abordagem terapêutica. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, São Paulo, v. 51, n. 4, p. 526-33, jun. 2007.
- TODA, C.; DIANO, S. Mitochondrial UCP2 in the central regulation of metabolism. **Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.**, New Haven, v. 28, n. 5, p. 757-64, Oct. 2014.
- URSINO, M. G. et al. The beta3-adrenoceptor as a therapeutic target: current perspectives. **Pharmacol. Res.**, Bologna, v. 59, n. 4, p. 221-34, Apr. 2009.
- VAN AMELSVOORT, J. M. et al. Plasma concentrations of individual tea catechins after a single oral dose in humans. **Xenobiotica**, Vlaardingen, v. 31, n. 12, p. 891-901, Dec. 2001.
- VANDENBROECK, P.; GOOSSENS, J.; CLEMENS, M. **Tackling obesities: future choices**. London: Government Office for Science, 2007. (Obesity System Atlas).
- VINSON, J. A. Black and green tea and heart disease: a review. **Biofactors**, Scranton, v. 13, n. 1-4, p. 127-32, 2000.

- WALDER, K. et al. Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2–UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. **Hum. Mol. Genet.**, Phoenix, v. 7, n. 9, p. 1431-5, 1998.
- WANG, H. et al. Effects of catechin enriched green tea on body composition. **Obesity**, Shanghai, v. 18, n. 4, p. 773-9, 2010.
- WANG, S. et al. Novel insights of dietary polyphenols and obesity. **J. Nutr. Biochem.**, Lubbock, v. 25, n. 1, p. 1-18, Jan. 2014.
- WANG, X. et al. Effects of green tea or green tea extract on insulin sensitivity and glycaemic control in populations at risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. **J. Hum. Nutr. Diet.**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 501-12, 2014.
- WANG, Y. et al. Pirilipin expression in human adipose tissues: effects of severe obesity, gender, and depot. **Obes. Res.**, Baton Rouge, v. 11, n. 8, p. 930-6, 2003.
- WEIR, J. B. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. **J. Physiol.**, v. 109, n. 1-2, p. 1-9, Aug. 1949.
- WILLIAMS, E. P. et al. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. **Curr. Obes. Rep.**, Jackson, v. 4, n. 3, p. 363-70, Sep. 2015.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity and overweight**: Fact sheet n° 311. WHO Media Centre, 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 29 fev. 2016.
- WU, C. H. et al. Relationship among habitual tea consumption, percent body fat, and body fat distribution. **Obes. Res.**, Tainan, v. 11, n. 9, p. 1088-95, Sep. 2003.
- WU, L. et al. Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. **Eur. J. Nutr.**, Taipei, v. 43, n. 2, p. 116-24, 2004.
- WULAN, S. N.; WESTERTEP, K. R.; PLASQUI, G. Ethnic differences in body composition and the associated metabolic profile: a comparative study between Asians and Caucasians. **Maturitas**, Maastricht, v. 65, n. 4, p. 315-9, 2010.
- XIAO, H. et al. Expression of lung uncoupling protein-2 mRNA is modulated developmentally and by caloric intake. **Exp. Biol. Med.**, Washington, v. 229, n. 6, p. 479-85, 2004.
- YAN, J.; ZHAO, Y.; ZHAO, B. Green tea catechins prevent obesity through modulation of peroxisome proliferator-activated receptors. **Sci. China Life Sci.**, Beijing, v. 56, n. 9, p. 804-10, 2013.
- ZHANG, M. et al. Green tea consumption enhances survival of epithelial ovarian cancer. **Int. J. Cancer**, Perth, v. 112, n. 3, p. 465-9, Nov. 2004.

Apêndices

APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido das pacientes do grupo controle.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaria de convidá-la para participar do projeto denominado “Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético e metabolismo de lipídios de indivíduos com obesidade grau III antes e após a suplementação com chá verde”, sob responsabilidade da aluna de mestrado, Driele Cristina Gomes Quinhoneiro e orientação da Prof^a Dr^a Carla Barbosa Nonino. Essa pesquisa irá incluir pacientes magros e também com obesidade com a finalidade de comparar as diferenças entre genes relacionados à obesidade. Somente os pacientes com obesidade receberão chá verde em cápsulas durante 8 semanas.

Você foi selecionada a partir dos atendimentos no Hospital Estadual e caso aceite participar da pesquisa, será incluso no grupo controle (pessoas magras).

Sua participação consiste na doação de 20ml de sangue (ou o equivalente a 2 colheres de sopa) que pode ocasionar dor da picada de agulha ou formação de pequenas manchas roxas no local da picada. Será coletado também 2g de gordura abdominal (ou o equivalente a meia colher de café). A coleta da gordura abdominal e do sangue será realizada durante procedimento cirúrgico que você já está agendado no Hospital Estadual de Ribeirão Preto. 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, em data agendada 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 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-) Análise 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.

As amostras da gordura, sangue e seus respectivos materiais genéticos serão armazenadas no biorrepositório **Nutrigenômica e Metabolismo** criado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, sob responsabilidade da aluna mestranda Driele Cristina Gomes Quinhoneiro e da sua orientadora Prof^a Dr^a Carla Barbosa Nonino.

A aluna Driele Cristina Gomes Quinhoneiro se compromete a identificar as amostras e os dados coletados de modo que garanta o seu sigilo e a sua confidencialidade, para isso a sua doação de gordura abdominal e sangue serão identificadas por meio de números.

Sua participação é voluntária, ou seja, você pode recusar a participar desse estudo. Além disso, não terá custo algum, tendo liberdade de aceitar ou não que sua amostra seja guardada, sem risco de qualquer penalização ou prejuízo no atendimento que lhe for prestado. A senhora também tem o direito de retirar seu consentimento a qualquer momento do estudo.

A senhora passará informações de contato para podermos lhe encontrar e garantimos fornecer as informações de seu interesse sobre o estudo e possíveis resultados.

A senhora receberá uma via desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, assinado e rubricado em todas as páginas pelo participante e pelo pesquisador

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

Ribeirão Preto, ____ de ____ de 20__.

Nome legível do participante ou responsável legal/testemunha

Assinatura do participante ou responsável legal/testemunha

Ribeirão Preto, ____ de ____ de 20__.

Nome legível do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador responsável

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido das pacientes do grupo intervenção, submetidas a oito semanas de suplementação de chá verde.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaria de convidá-la para participar do projeto denominado “Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético e metabolismo de lipídios de indivíduos com obesidade grau III antes e após a suplementação com chá verde”, sob responsabilidade da aluna de mestrado, Driele Cristina Gomes Quinhoneiro e orientação da Prof^a Dr^a Carla Barbosa Nonino. Essa pesquisa irá incluir pacientes magros e também com obesidade com a finalidade de comparar as diferenças entre genes relacionados à obesidade. Somente os pacientes com obesidade receberão chá verde em cápsulas durante 8 semanas.

Você será incluso no grupo intervenção que receberá suplementação de chá verde, em cápsulas, durante 8 semanas.

Você foi selecionada a partir dos atendimentos no Ambulatório de Obesidade do Hospital das Clínicas da FMRP-USP. Sua participação consiste na doação de sangue, gordura abdominal, medidas corporais e de consumo alimentar em 2 momentos, no início do estudo e após 8 semanas recebendo a suplementação com cápsulas de chá verde. Abaixo detalhamos cada procedimento:

1. Será coletado 20ml de sangue (ou o equivalente a 2 colheres de sopa) que pode ocasionar dor da picada de agulha ou formação de pequenas manchas roxas no local da picada.
2. Será coletado também 2g de gordura abdominal (ou o equivalente a meia colher de café) no Ambulatório de Cirurgia Bariátrica do Hospital das Clínicas da FMRP-USP. Esse procedimento pode causar dor local, vermelhidão e inchaço. O tempo total desse procedimento é de 20 minutos, realizados com anestesia local por médico qualificado.
3. Medidas de peso, altura, circunferência do abdômen. Procedimento indolor e não invasivo.
4. 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.
5. 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. Procedimento indolor e não invasivo.
6. Análise da sua alimentação (todos os alimentos que você consome durante um dia) por meio do questionário chamado de Recordatório 24 horas.

As amostras da gordura, sangue e seus respectivos materiais genéticos serão armazenadas no biorrepositório Nutrigenômica e Metabolismo criado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, sob responsabilidade da aluna mestranda Driele Cristina Gomes Quinhoneiro e da sua orientadora Prof^a Dr^a Carla Barbosa Nonino.

A aluna Driele Cristina Gomes Quinhoneiro se compromete a identificar as amostras e os dados coletados de modo que garanta o seu sigilo e a sua confidencialidade, para isso a sua doação de gordura abdominal e sangue serão identificadas por meio de números.

As cápsulas de chá verde serão fornecidas pela pesquisadora e não terão custos para o participante. Você deve ingerir 2 cápsulas por dia juntamente com 1 copo de água. Estudos anteriores mostram que a dose do chá verde que será administrada é segura, mas para controle de quaisquer alterações no fígado, será realizado o monitoramento da função do fígado por meio de enzimas hepáticas em 3 momentos: inicialmente, após 4 semanas e ao final do estudo. Se detectado algum prejuízo, a suplementação será interrompida imediatamente.

Sua participação é voluntária, ou seja, você pode recusar a participar desse estudo. Além disso, não terá custo algum, tendo liberdade de aceitar ou não que sua amostra seja guardada, sem risco de qualquer penalização ou prejuízo no atendimento que lhe for prestado. Você também tem o direito de retirar seu consentimento a qualquer momento do estudo.

Você permitirá o acesso dos resultados de exames de sangue contidos no seu prontuário eletrônico e passará informações de contato para podermos lhe encontrar e garantimos fornecer as informações de seu interesse sobre o estudo e possíveis resultados.

Você receberá uma via desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, assinado e rubricado em todas as páginas pelo participante e pelo pesquisador

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

Ribeirão Preto, ____ de ____ de 20__.

Nome legível do participante ou responsável legal/testemunha

Assinatura do participante ou responsável legal/testemunha

Ribeirão Preto, ____ de ____ de 20__.

Nome legível do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador responsável

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

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO

Gostaria de convidá-la para participar do projeto denominado “Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético e metabolismo de lipídios de indivíduos com obesidade grau III antes e após a suplementação com chá verde”, sob responsabilidade da aluna de mestrado, Driele Cristina Gomes Quinhoneiro e orientação da Prof^a Dr^a Carla Barbosa Nonino.

Sua participação consiste na doação de 20ml de sangue (ou o equivalente a 2 colheres de sopa) que pode ocasionar dor da picada de agulha ou formação de pequenas manchas roxas no local da picada. Será coletado também 2g de gordura abdominal (ou o equivalente a meia colher de café), através da biópsia na altura do umbigo que levará um pequeno corte de aproximadamente 1 centímetro e para o fechamento do corte serão dados 2 pontos. Esse procedimento pode causar dor local, vermelhidão e inchaço. O tempo total desse procedimento é de 20 minutos, realizados com anestesia local por médico qualificado. Ambas as doações serão feitas em 2 momentos, no início do estudo e após 8 semanas (final).

As amostras da gordura, sangue e seus respectivos materiais genéticos serão armazenadas no biorrepositório Nutrigenômica e Metabolismo criado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, sob responsabilidade da aluna mestranda Driele Cristina Gomes Quinhoneiro e da sua orientadora Prof^a Dr^a Carla Barbosa Nonino.

A aluna Driele Cristina Gomes Quinhoneiro se compromete a identificar as amostras e os dados coletados de modo que garanta o seu sigilo e a sua confidencialidade, para isso a sua doação de gordura abdominal e sangue serão identificadas por meio de números.

Sua participação é voluntária e você não terá custo algum, tendo liberdade de aceitar ou não que sua amostra seja guardada, sem risco de qualquer penalização ou prejuízo no atendimento que lhe for prestado. A senhora também tem o direito de retirar seu consentimento a qualquer momento do estudo.

A senhora passará todos os dados de como podemos lhe encontrar e garantimos fornecer as informações de seu interesse.

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

Dados do doador:

Nome: _____, RG: _____, Endereço:
_____, nº _____, bairro _____, cidade _____, telefone

Solicitamos sua assinatura, tendo recebido as informações acima, para confirmação de aceitação de que sua amostra de material biológico seja armazenada no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, sob a responsabilidade Driele Cristina Gomes Quinhoneiro, para fins de pesquisa e análise científica. **Também afirmamos que uma via deste documento, devidamente assinada será entregue ao senhor (a).**

Dados do pesquisador responsável:

Nome legível: _____

Telefone para contato: _____

Assinatura: _____

Data: _____

Dados do participante (doador):

Nome legível: _____

Assinatura: _____

Data: _____

[illegible]

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, 03 de setembro de 2014

Ofício nº 3183/2014
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 5502/2014

Prezadas Pesquisadoras,

O trabalho intitulado **"ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO GASTO ENERGÉTICO E METABOLISMO DE LIPÍDIOS DE INDIVÍDUOS COM OBESIDADE GRAU III ANTES E APÓS A SUPLEMENTAÇÃO COM CHÁ VERDE"**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 393ª Reunião Ordinária realizada em 01/09/2014, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 3 datados de 22/07/2014.

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

Lembramos que devem ser apresentadas 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 – aposto 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 – aposto sua assinatura na última página do referido Termo.

Atenciosamente,

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimas Senhoras

DRIELE CRISTINA GOMES QUINHONEIRO
PROFª DRª CARLA BARBOSA NONINO (Orientadora)
Depto. de Clínica Médica

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

HERibeirão
Hospital Estadual de Ribeirão Preto
"Prof. Dr. Carlos Eduardo Martinelli"

CIR-HERibeirão
Centro Integrado de Reabilitação - Hospital Estadual de Ribeirão Preto
"Prof. Dr. Carlos Eduardo Martinelli"

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 Affonso Parenti de Oliveira
Bruno Affonso Parenti de Oliveira
Pesquisador Principal

Prof. Dr. Wilson Salgado Júnior
Prof. Dr. Wilson Salgado Júnior
Diretor Geral

HOSPITAL ESTADUAL DE RIBEIRÃO PRETO - "Prof. Dr. Carlos Eduardo Martinelli"
Avenida Independência, 4750 - Jardim Califórnia - Cep: 14026-160 - Ribeirão Preto - São Paulo
CNPJ/MF 57.722.118/0002-21 - Fones: 3602-7100