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

CAROLINE ROSSI WELENDORF

Comprimento dos telômeros e expressão de genes do complexo *shelterin* em mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica e eutróficas

Ribeirão Preto
2018

CAROLINE ROSSI WELENDORF

Comprimento dos telômeros e expressão de genes do complexo *shelterin* em mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica e eutróficas

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: Profª. Drª. Carla Barbosa Nonino

Ribeirão Preto

2018

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

FICHA CATALOGRÁFICA

Welendorf, Caroline Rossi

Comprimento dos telômeros e expressão de genes do complexo *shelterin* em mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica e eutróficas, 2018.

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

Orientadora: Nonino, Carla Barbosa.

1. Comprimento dos telômeros
2. Obesidade
3. Cirurgia Bariátrica
4. Expressão Gênica
5. *Shelterin*

Caroline Rossi Welendorf

Comprimento dos telômeros e expressão de genes do complexo *shelterin* em mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica e eutróficas, 2018.

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

Área de concentração: Clínica Médica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico esse trabalho aos meus pais Sônia e Werner por todo apoio, compreensão, carinho, paciência e incentivo que sempre me proporcionaram na minha vida pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

"Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós.
Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós."
Antoine de Saint-Exupéry

Como não saberia fazer nada disso sozinha, muitas são as pessoas que me ajudaram para que esse trabalho fosse concluído, por isso, meus sinceros agradecimentos:

Primeiramente, à Deus por ter me ajudado a superar as dificuldades e por tornar possível a realização de um sonho muito importante para mim.

À minha família, em especial meus pais Sônia e Werner por acreditarem em mim desde o primeiro instante, sempre me apoiando, confortando e por não medirem esforços para ajudar na conquista dos meus objetivos. Obrigada por sempre terem acreditado em mim e no meu potencial. Aos meus irmãos, André e Áthila por todo apoio. Sou quem sou porque vocês estiveram e estão sempre ao meu lado.

À minha querida orientadora Dra. Carla Barbosa Nonino, por quem tenho grande admiração e respeito, agradeço por toda orientação, paciência e pelo acolhimento desde o primeiro momento. Muito obrigada pela orientação na realização desse projeto.

Aos meus amigos do Laboratório de Estudos em Nutrigenômica (LEN) que mostraram a importância do trabalho em equipe, sempre presentes e sendo solícitos. Em especial, agradeço as minhas queridas amigas Flávia Ferreira, Letícia Wolf e Rayana

Foglietti por todo companheirismo no dia a dia e por estarem sempre dispostas a me ajudar indiferente da situação. Obrigada pela parceria incondicional. Esta caminhada não seria a mesma sem vocês.

À Cristiana Cortes por me receber de braços abertos desde o primeiro momento que entrei no Laboratório, sempre disposta a me ajudar e passar seus conhecimentos, além de se tornar uma amiga muito especial!

À Carolina Nicoletti e Marcela Pinhel por todo apoio e suporte no decorrer dessa caminhada, por sempre estarem dispostas a ajudar e a compartilhar um conhecimento ou um riso.

À Natália Yumi pela amizade e ensinamentos que me proporcionou no período das análises genéticas. E à Vitor Caressato pela grande ajuda no começo das análises.

À Luzânia Martins, Bruno Parenti, Bruna Morais, Márcia Vilela, Camila Brandão, Heitor Bernardes pela amizade e momentos prazerosos vividos com toda equipe.

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

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

Às participantes deste estudo pela disponibilidade e paciência em nome da Ciência.

Aos meus amigos Aliny Ferreira, Camila Sandy, Caroline Adorni, Cinthia Yokota, Clara Passos, Ingrid Mônaco, Juliana Mazin, Laís Guerra, Marília Dorsa, Mayara Astini, Naiara Dias,

Pedro Farris, Rodrigo Camargo, Tatiana Cerávolo obrigada pelo companheirismo a distância, pelo apoio, pelas risadas.

Ao secretário Emerson Quirino de Oliveira do Departamento de Clínica Médica da FMRP-USP pela atenção e apoio ao decorrer dessa etapa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento do meu projeto por meio de bolsa de mestrado.

"A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, e sim em ter novos olhos"

(Marcel Proust)

Resumo

RESUMO

WELENDORF, C.R. **Comprimento dos telômeros e expressão de genes do complexo *shelterin* em mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica e eutróficas.** Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2018.

Telômeros são estruturas localizadas nas extremidades dos cromossomos associadas a um conjunto de proteínas, o complexo *shelterin*, as quais são responsáveis pela proteção e preservação do material genético. O complexo *shelterin* é formado por seis proteínas denominadas TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1 e POT1. O comprimento dos telômeros (CT) diminui progressivamente a cada divisão celular e evidências recentes sugerem que o estilo de vida pode acarretar em um encurtamento dos telômeros. Nos indivíduos com obesidade, o excesso de tecido adiposo exerce um papel fundamental ao induzir um estado inflamatório crônico e sistêmico, capaz de gerar o encurtamento do CT. Neste contexto, a cirurgia bariátrica é uma das modalidades de tratamento mais eficaz na melhora do controle metabólico da obesidade. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o comprimento dos telômeros e a expressão dos genes *POT1, TRF1 e TRF2* em mulheres com obesidade antes e após seis meses da cirurgia bariátrica e em mulheres eutróficas. A amostra foi composta por 48 indivíduos do sexo feminino com obesidade submetidas à derivação gástrica em Y de Roux (DGYR) e 16 mulheres eutróficas. Tratou-se de um estudo longitudinal prospectivo no qual foram coletadas medidas antropométricas de peso e altura para cálculo do índice de massa corporal (IMC), circunferência abdominal (CA), composição corporal [massa livre de gordura (MLG) e massa gorda (MG)], ingestão alimentar e coleta de sangue para avaliação bioquímica, análise do CT (DNA) e expressão gênica (RNA). As mulheres com obesidade foram avaliadas antes e após seis meses do procedimento cirúrgico e as eutróficas em um único momento. Como principal resultado, observou-se, após seis meses do procedimento cirúrgico, redução do peso, IMC, CA, MLG, MG, assim como dos parâmetros bioquímicos. Ainda, verificou-se um menor CT entre as pacientes com obesidade quando comparada as mulheres eutróficas e um aumento no CT após a cirurgia quando comparado ao período pré-operatório, entretanto, permaneceu significante menor em relação ao grupo controle. Adicionalmente, observou-se que as modificações das concentrações de triglicérides influenciaram o comprimento dos telômeros, mesmo quando ajustado por idade. Com relação à expressão gênica, observou-se maior expressão dos genes POT1, TRF1 e TRF2 em mulheres eutróficas quando comparadas as pacientes com obesidade antes da DGYR; e aumento da expressão do gene TRF1 após o procedimento cirúrgico. Conclui-se que o CT de mulheres com obesidade é significante menor em relação às mulheres eutróficas. A intervenção cirúrgica mostrou ser eficaz na melhora da composição corporal, dos indicadores bioquímicos e capaz de aumentar o comprimento dos telômeros. Nossos resultados também demonstraram expressão aumentada de POT1, TRF1 e TRF2 em mulheres eutróficas e aumento na expressão de TRF1 após a cirurgia.

Palavras-chave: Comprimento dos Telômeros. Obesidade. Cirurgia Bariátrica. Expressão Gênica. Complexo *Shelterin*.

ABSTRACT

WELENDORF, C. R. **Telomere length and gene expression of *shelterin* complex in women underwent bariatric surgery and normal weight.** 2018. Dissertation (Master´s degree) – Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo. Ribeirão Preto, 2018.

Telomeres are structures located at the ends of chromosomes associated with proteins, the shelterin complex, which are responsible for the protection and preservation of the genetic material. The shelterin complex is formed by six proteins: TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1 and POT1. The telomere length (TL) progressively decreases with each cell division and recent evidence suggests that lifestyle can lead to telomere shortening. In individuals with obesity, excess adipose tissue plays a key role in inducing a chronic and systemic inflammatory state, which can cause TL shortening. In this context, bariatric surgery is one of the most effective treatment modalities in improving the metabolic control of obesity. Thus, the present study aimed to evaluate the telomere length and expression of the *POT1, TRF1 and TRF2* genes in obese women before and after six months of bariatric surgery and in eutrophic women. The sample consisted of 48 obese female subjects submitted to Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) and 16 eutrophic women. This was a prospective longitudinal study in which anthropometric measures of body weight and height (BMI), abdominal circumference (AC), body composition [fat free mass (FFM) and fat mass (FM) were collected], food intake and blood collection for biochemical evaluation, TL analysis (DNA) and gene expression (RNA). Women with obesity were evaluated before and after six months of the surgical procedure and the eutrophic ones in a single moment. As a main result, was observed reduction of the weight, BMI, AC, FFM, FM, as well as the biochemical parameters after six months of the surgical procedure. Also, there was a lower TL among obese patients when compared to eutrophic women and a higher TL after surgery when compared to the preoperative period. However, even with a six-month stretch of the RYGB, patients with obesity remained with the TL lower than the control group. In addition, changes in triglyceride concentrations influenced telomere length, even when adjusted for age. Regarding the gene expression evaluated, the expression of *POT1, TRF1* and *TRF2* genes was higher in eutrophic women when compared to patients with obesity before RYGB; and increased expression of the *TRF1* gene after the surgical procedure. It is concluded that the TL of obese women is less significant in relation to eutrophic women. The surgical intervention showed to be effective in the improvement of the body composition, the biochemical indicators and able to increase the telomere length. Our results also demonstrated increased expression of *POT1, TRF1 and TRF2* in eutrophic women and increased expression of *TRF1* after surgery.

Key words: Telomere length. Obesity. Bariatric surgery. Gene expression. Shelterin complex.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Repetições teloméricas em um linfócito humano são visualizadas em amarelo usando hibridização in situ de fluorescência quantitativa. 24
Figura 2. Estrutura em laço (t loop) dos telômeros com as proteínas presentes no complexo shelterin. 25
Figura 3. Delineamento experimental do estudo. 39
Figura 4. Aparelho de Bioimpedância Elétrica e posicionamento dos eletrodos no momento da avaliação. 40
Figura 5. Fluxograma das pacientes com obesidade selecionadas para o estudo...48
Figura 6. Análise do comprimento dos telômeros mulheres eutróficas e pacientes antes e após seis meses do procedimento cirúrgico. 52
Figura 7. Expressão gênica relativa em mulheres antes e após seis meses do procedimento cirúrgico e mulheres eutróficas (controle). A: POT1; B: TRF1; C: TRF2. 53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Valores de referência de indicadores bioquímicos utilizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo. 41
Quadro 2. Sequência dos primers utilizados na reação de PCR em tempo real. 43
Quadro 3. Sondas de hidrólise para os genes avaliados no presente estudo. 44
Quadro 4. Sondas de hidrólise para os genes de referência selecionados para o presente estudo.....45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Hábitos de vida e presença de comorbidades de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.....49
Tabela 2. Antropometria e composição corporal de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.....50
Tabela 3. Consumo alimentar de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.....51
Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.....51
Tabela 5. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com as variáveis antropométricas.....54
Tabela 6. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com o consumo alimentar.....54
Tabela 7. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com os parâmetros bioquímicos. 55
Tabela 8. Análise de regressão linear ajustada pela idade mostrando a contribuição das modificações das concentrações de triglicérides no comprimento dos telômeros. 55
Tabela 9. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com a expressão dos genes POT1, TRF1 e TRF2. 56

LISTA DE ABREVIATURAS

CA	Circunferência abdominal
cDNA	DNA complementar
cm	Centímetro
CT	Comprimento dos telômeros
DNA	Do inglês: *Deoxyribonucleic acid*
DP	Desvio Padrão
g	Gramas
HCFMRP-USP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo
HDL	Do inglês: *High density lipoproteins*
IMC	Índice de massa corporal
Kcal	Quilocaloria
Kb	Quilobase
Kg	Quilograma
LDL	Do inglês: *Low density lipoproteins*
MCM	Massa corporal magra
MG	Massa gorda
m^2	Metros ao quadrado
OMS	Organização mundial da saúde
POT1	Do inglês: *Protection of telomeres protein 1*
qPCR	PCR em tempo real
RAP1	Do inglês: *Repressor/Activator protein 1*
RNA	Do inglês: *Ribonucleic acid*
RT – qPCR	Transcrição reversa por reação em cadeia da polimerase
SPSS	*Statistical Package for Social Science*

TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TFR1	Do inglês: *Telomeric repeat-binding protein factor 1*
TRF2	Do inglês: *Telomeric repeat-binding protein factor 2*
TG	Triglicérides
TIN2	Do inglês: *TRF-1- Interactin nuclear factor 2*
TMR	Taxa metabólica de repouso
TPP1	Do inglês: *Trypeptidyl peptidase 1*
%PP	Percentual de perda de peso

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 23
1.1. Telômeros: Estrutura e função 23
1.2. Complexo *Shelterin* 24
1.3. Regulação do comprimento dos telômeros 26
1.4. Fatores associados ao comprimento dos telômeros 27
1.5. Telômeros e obesidade 28
1.5.1. Epidemiologia da obesidade 29
1.5.2. Tratamento da obesidade 30
2. JUSTIFICATIVA 34
3. OBJETIVOS 35
3.1. Objetivo geral 35
3.2. Objetivos específicos 35
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS 37
4.1. Casuística 37
4.2. Aspectos Éticos 37
4.3. Critérios de exclusão 37
4.4. Cirurgia bariátrica 37
4.5. Delineamento do estudo 38
4.6. Avaliação de hábitos de vida e presença de comorbidades 39
4.7. Avaliação nutricional 39
4.7.1. Antropometria 39
4.7.2. Avaliação da composição corporal 40
4.7.3. Avaliação do consumo alimentar 41
4.8. Coleta de sangue 41
4.9. Avaliação bioquímica 41
4.10. Análise do comprimento dos telômeros 42
4.10.1. Extração de DNA 42
4.10.2. Análise do comprimento dos telômeros 42
4.11. Análise da expressão gênica 43
4.11.1. Extração de RNA 43
4.11.2. Transcrição reversa por reação em cadeia de polimerase – RT – qPCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction) – Síntese de Cdna 44

4.11.3. Análise de Expressão Gênica – PCR em tempo real (qPCR) 44
4.11.4. Controle endógeno 44
4.12. Análise estatística 45
5. RESULTADOS 48
6. DISCUSSÃO 58
7. CONCLUSÃO 66
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 68
9. APÊNDICES 78
10. ANEXOS 81

Introdução

1. INTRODUÇÃO

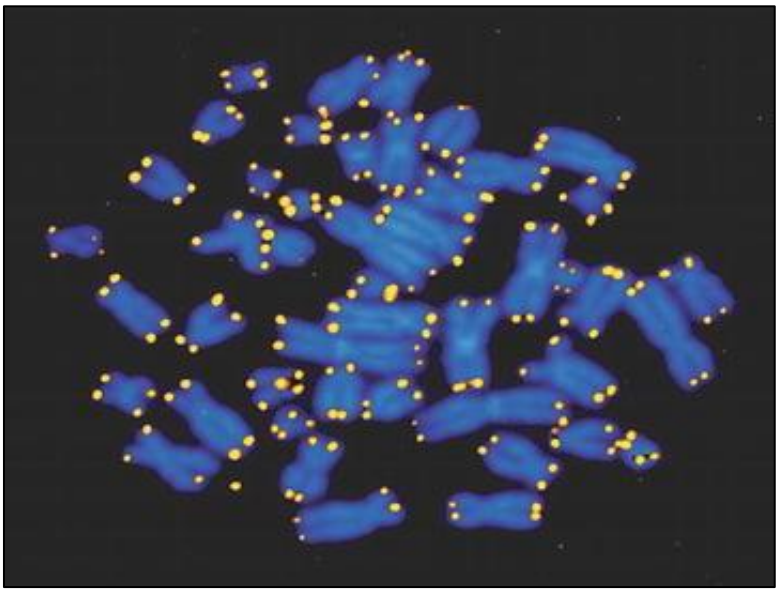
A história dos telômeros começou em 1938, quando o geneticista Herman Muller observou que os cromossomos tinham propriedades especiais em seus terminais, que os protegiam da fusão cromossômica (MCCLINTOCK, 1939). Muller os denominou com o termo “telômeros” (das palavras gregas “*telos*” – fim e “*meros”* – parte ou porção). Entretanto, em 1978 Elizabeth Blackburn e Joseph Gall sequenciaram a estrutura molecular dos telômeros do protozoário ciliado *Tetrahymena thermophila* e perceberam que os terminais cromossômicos consistiam de uma sequência simples de repetições de T e G, as quais protegiam os cromossomos da degradação (BLACKBURN; GALL, 1978). Posteriormente, Blackburn e Carol Greider fizeram a incrível descoberta da presença de um mecanismo de manutenção e aumento do comprimento telomérico, realizado pela enzima telomerase (GREIDER; BLACKBURN, 1985). Toda essa pesquisa da caracterização da sequência telomérica juntamente com a descoberta da telomerase e seus mecanismos de manutenção do comprimento telomérico renderam à Blackburn, Greider e Szostak o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina de 2009.

1.1. Telômeros: Estrutura e função

Telômeros são estruturas localizadas nas extremidades dos cromossomos associadas a proteínas de proteção e constituídos por material genético não-codificante. Cada espécie possui uma repetição telomérica comum, sendo nos mamíferos, repetições em tandem de filamento duplo de TTAGGG com uma protusão de fita simples 3' de 50-400 nucleotídeos, rica em G (guanina), chamada de *G tail* (BLAZE; ASOK; ROTH, 2015; JIA; HER; CHAI, 2015). Em humanos, os telômeros possuem entre 10 a 15 quilobases (kb) e, a cada divisão celular, há uma perda de repetições teloméricas com redução aproximada de 24 a 45 bases por ano (MUEZZINLER; ZAINEDDIN; BRENNER, 2013).

O DNA não codificante dos telômeros preserva a informação genética, protegendo o DNA de danos decorrentes da replicação, evitando a fusão dos terminais de diferentes cromossomos e a degradação destes por enzimas que, sem a presença dos terminais, reconheceriam o material cromossômico como DNA danificado (DAHSE; FIEDLER; ERNST, 1997; MEEKER, 2002).

Figura 1. Repetições teloméricas em um linfócito humano são visualizadas em amarelo usando hibridização in situ de fluorescência quantitativa.



Fonte: AUBERT; LANSDORP, 2008.

A estrutura tridimensional dos telômeros com uma protrusão de DNA fita simples está associada a um conjunto de proteínas denominadas de complexo *shelterin* (DE LANGE, 2005). Esse complexo nucleoproteico hexamérico é responsável por manter a integridade das extremidades de nossos cromossomos ao favorecer a formação do *G tail* em uma estrutura tridimensional em laço (*t loop*) que ajuda na proteção contra o desgaste excessivo no decorrer das divisões celulares (MAKAROV; HIROSE; LANGMORE, 1997). Portanto, tais proteínas têm a função de proteger as terminações dos cromossomos a partir de todos os aspectos da resposta a danos no DNA. Adicionalmente, pela proximidade física, o complexo *shelterin* também regula a atividade da enzima telomerase sobre os telômeros (TURNER et al., 2014).

1.2. Complexo *Shelterin*

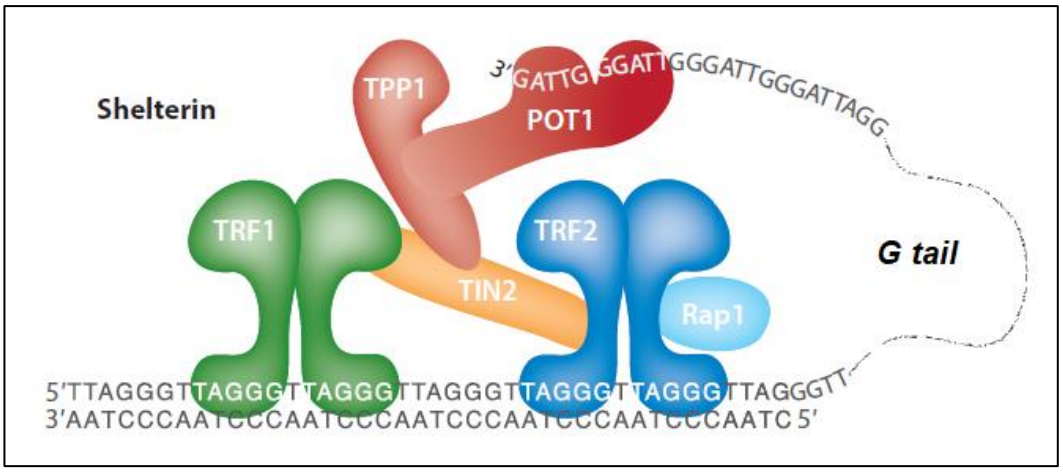
O complexo *shelterin* é formado por seis proteínas denominadas, TRF1, TRF2 (*Telomeric Repeat-Binding Protein Factor 1 e 2*, respectivamente), RAP1 (*Repressor/Activator Protein 1*), TIN2 (*TRF-1- Interactin Nuclear Factor 2*), TPP1 (*Trypeptidyl Peptidase 1*) e POT1 (*Protection of Telomeres 1*) (LIN et al., 2014).

A proteína TRF1 tem sido citada como principal componente do complexo por ser a proteína chave para atração e formação das outras proteínas (GARCIA-BECCARIA et al., 2015). A TRF1 se liga à fita dupla de DNA telomérico com alta especificidade, assim como a proteína TRF2 também interage com a dupla fita de DNA telomérico e cumpre a função de proteger a simples fita 3' do telômero, sendo responsável pela formação e manutenção do *t loop* (SCHMUTZ; DE LANGE, 2016). Já a proteína RAP1 é recrutada até os telômeros por meio de sua interação específica com TRF2 (DE LANGE, 2005; LIN et al, 2014).

Diferente das TRFs, a proteína POT1 tem preferência para interagir com a fita simples 3' do DNA telomérico e cumpre também a função de proteger o telômero na região terminal. A ligação do DNA telomérico ao POT1 é mediada pelo domínio OB (do inglês, *oligonuclotide/oligossaccharide-binding*) do N-terminal da proteína, enquanto a porção C-terminal se liga ao TPP1, formando um heterodímero (NANDAKUMAR & CECH, 2012).

POT1 e TPP1 desempenham papéis-chave na regulação da ação da telomerase nos telômeros (SCHMUTZ; DE LANGE, 2016). A proteína TTP1 promove maior estabilidade da POT1 sobre o DNA telomérico e interage diretamente com a subunidade catalítica (TERT) da telomerase, sendo responsável pelo seu recrutamento (RAJAVEL et al, 2016). Enquanto isso, a TIN2 forma uma ponte entre os dois homodímeros TRF1 e TRF2 e o heterodímero TPP1/POT1 estabilizando todo o complexo (Figura 2) (BANDARIA et al., 2016).

Figura 2. Estrutura em laço (*t loop*) dos telômeros com as proteínas presentes no complexo *shelterin*.



Fonte: Adaptado de DE LANGE, 2018.

1.3. Regulação do comprimento dos telômeros

Os telômeros e os mecanismos de regulação telomérica têm sido alvos de estudos clínicos devido sua relação com o envelhecimento, imortalização celular e câncer (DAHSE; FIEDLER; ERNST, 1997; MA et al., 2011; ZHANG et al., 2014). O comprimento dos telômeros (CT) diminui progressivamente durante sucessivos ciclos de divisão celular, os quais ocorrem constantemente com a maioria das células somáticas humanas e com alguns microrganismos eucariotos que se multiplicam por divisão celular simples, devido à dificuldade da enzima DNA polimerase em replicar a fita de DNA no sentido 3'-5' (GREIDER; BLACKBURN, 1996; BLACKBURN, 2001). Sendo assim, o encurtamento dos telômeros é um processo natural, mas que pode ser acelerado por fatores ligados ao estresse oxidativo e a processos inflamatórios (HOUBEN et al., 2008; WOLKOWITZ et al., 2011).

Quando a região telomérica apresenta um comprimento crítico, ocorre uma sinalização que induz parada de crescimento e senescência celular (AUTEXIER; GREIDER, 1996; TOLLEFSBOL; ANDREWS, 2001). A senescência celular, ou envelhecimento celular, é caracterizada pela interrupção das divisões celulares, em que os telômeros podem alcançar determinado tamanho que não responde a estímulos fisiológicos para a continuidade da replicação, além de tornarem-se ineficientes para a proteção das extremidades cromossômicas, o que ocasiona a fusão dos cromossomos e morte celular apoptótica (VON ZGLINICKI, 2002).

Em resposta a esse encurtamento, pesquisadores descobriram que a enzima denominada telomerase apresenta-se como alternativa para a manutenção do CT. A atividade da telomerase age em resposta ao encurtamento de telômeros associado com a replicação celular e eventos de degradação ao DNA, ao reconhecer as terminações dos telômeros e acrescentar repetições adicionais (KIM et al., 1994; TOMITA, 2018).

A telomerase não é expressa na maioria das células somáticas (KIM et al., 1994; SHAY & BACCHETTI, 1997). Ainda, em células maduras e em diferenciação, como as células sanguíneas, a atividade da telomerase geralmente apresenta-se baixa ou inexistente (BROCCOLI; YOUNG; LANGE, 1995; ENGELHARDT, 1997). Em contraste, as células germinativas e a maioria das células tumorais expressam a telomerase e, assim, mantem o comprimento dos telômeros ao longo de inúmeras divisões celulares (AHMED; TOLLEFSBOL, 2004).

Os principais componentes da telomerase incluem uma subunidade catalítica da enzima, TERT (do inglês: *Telomerase Reverse Transcriptase*) e um RNA molde, TERC (do inglês: *Telomerase RNA Component*), os quais são responsáveis por manter o DNA nestas estruturas por meio da adição de novos pares de base aos cromossomos, garantindo sua extensão a cada divisão celular (HERRERA; SFERCO, 2018).

Assim, o CT tem sido considerado como um relógio biológico de senescência celular e envelhecimento biológico capaz de predizer a capacidade replicativa das células, sendo um importante biomarcador (CHEN, S. et al, 2014).

1.4. Fatores associados ao comprimento dos telômeros

Estima-se que a herdabilidade do CT em humanos varia de 30 a 80% (BLACKBURN; EPEL; LIN, 2015). Evidências recentes sugerem que os fatores genéticos não são suficientes para explicar o comprimento dos telômeros e a atividade da telomerase, mostrando que o estilo de vida pode acarretar em um encurtamento dos telômeros. Está bem estabelecido que os telômeros encurtam com a idade, fenômeno resultante do problema de replicação final (GREIDER; BLACKBURN, 1996; BLACKBURN, 2001). A média do CT no nascimento é de 11 kbp e diminui para menos de 4 kpb em idosos.

Muitos fatores têm sido relacionados ao CT, como sexo, estresse, atividade física, tabagismo, poluição ambiental, índice de massa corporal (IMC), consumo de álcool, antioxidantes dietéticos, vitaminas, oligoelementos, inflamação crônica, status socioeconômico e idade paterna (STARKWEATHER et al., 2014; ZHAO et al., 2018; GARDNER et al., 2014). Como exemplo, observa-se que mulheres apresentam CT maior em relação aos homens, possivelmente devido ao estilo de vida e ao efeito protetor do estrógeno (AVIV, 2002). Além disso, a associação entre estresse e CT pode ser evidenciada no início da vida. O CT de recém-nascidos foi menor em proporção aos níveis de estresse experimentados pela mãe durante a gravidez (ENTRINGER et al., 2011).

É bem conhecido que a atividade física está associada ao envelhecimento saudável e à redução do risco de várias condições crônicas (BAUMAN; SMITH, 2000), embora a relação entre atividade física e o CT ainda não esteja clara. Em um estudo que avaliou os níveis de estresse em indivíduos sedentários e fisicamente ativos, o

estresse percebido entre os indivíduos sedentários foi negativamente associado com o comprimento dos telômeros, enquanto que entre os indivíduos fisicamente ativos, o estresse percebido não foi relacionado ao comprimento dos telômeros (PUTERMAN et al., 2010).

O tabagismo, que aumenta diretamente o estresse oxidativo, está associado a uma perda de 5 pares de bases de sequência telomérica a cada ano. Clinicamente, achados científicos sustentam que fumar um maço de cigarros por dia durante 40 anos poderia levar a taxas de atrito telomérico que seriam equivalentes a uma perda de 7,4 anos de vida (VALDES et al., 2005).

De interesse para os nutricionistas, tanto estudos em animais como com humanos, o CT tem demonstrado estar associado ao estado nutricional. Estilos de vida saudáveis estão positivamente correlacionados com o CT. Evidências mostram que mudanças na dieta e no estilo de vida podem modular a atividade da telomerase em células mononucleares do sangue periférico (ORNISH et al, 2008), embora não esteja claro se isso se traduz em mudanças no comprimento dos telômeros. Alguns fatores nutricionais como vitaminas (incluindo folato, nicotinamida, vitamina A, B12, C, D e E), minerais (incluindo magnésio, zinco e ferro) e outros componentes dietéticos bioativos (como ácidos graxos ômega-3, polifenóis e curcumina) são capazes de influenciar direta ou indiretamente o CT por meio de vários mecanismos (PAUL, 2011).

1.5. Telômeros e obesidade

Na obesidade, o excesso de adiposidade aumenta a produção de uma ampla gama de adipocinas, incluindo hormônios, citocinas e fatores imunológicos que apresentam ações pró-inflamatórias (OUCHI et al., 2011), os quais causam rupturas dos filamentos individuais no DNA e aumentam a taxa de atrito telomérico (VON ZGLINICKI, 2002). Além disso, o tecido adiposo em indivíduos com obesidade é infiltrado por macrófagos e esse recrutamento está ligado à inflamação sistêmica e resistência à insulina (WEISBERG et al., 2003). Tais características contribuem para um estado inflamatório crônico e de baixo grau e, consequentemente, ao aparecimento de desequilíbrios metabólicos além da aceleração do envelhecimento e a propensão de surgimento de doenças relacionadas a idade, por meio da deterioração da estrutura e função dos órgãos e distúrbios das vias homeostáticas (TZANETAKOU et al., 2012).

Em mulheres com obesidade estima-se que os telômeros sejam 240 pb mais curtos (VALDES et al, 2005). Evidências mostram que indivíduos com obesidade apresentam telômeros mais curtos em comparação a indivíduos eutróficos (VALDES et al, 2005; LEE et al, 2011; RODE et al., 2014). Adicionalmente, a maioria dos estudos relatam uma associação significativa entre restrição calórica e perda significativa de peso sobre o comprimento dos telômeros (CASSIDY et al., 2010; MARCON et al., 2011; BOCCARDI et al., 2013).

Carulli e colaboradores (2016) investigaram indivíduos antes e após seis meses do balão intragástrico e verificaram que os indivíduos que obtiveram maior perda de peso, apresentaram maior alongamento dos telômeros. Entretanto, após um ano de cirurgia bariátrica verificou-se diminuição do CT (FORMICHI et al., 2014), provavelmente devido ao pós-operatório imediato, o qual é caracterizado por um estado catabólico, que acelera o atrito telomérico (EPEL, 2009). Já, Dershem e colaboradores (2017) avaliaram indivíduos entre três e cinco anos após a DGYR e observaram um aumento do CT, enfatizando que o alongamento significativo ocorreu em pacientes com o CT basal mais curto. No entanto, o CT não se correlacionou com a porcentagem de perda de peso. No pós-operatório tardio de 10 anos, alguns autores constataram aumento relativo do CT, possivelmente devido à melhoria das características metabólicas (LAIMER et al., 2016). No entanto, ainda não está claro se o encurtamento dos telômeros é uma causa ou consequência de mudanças na adiposidade.

1.5.1. Epidemiologia da obesidade

A obesidade é caracterizada por acúmulo anormal ou excessivo de gordura no tecido adiposo com efeitos deletérios à saúde humana, sendo classificada pelo IMC, o qual é calculado pelo peso em quilogramas (kg) dividido pelo quadrado da altura (m^2). Indivíduos com escores iguais ou superiores a 30,0 kg/m^2 são definidos como indivíduos com obesidade (OMS, 2004).

A obesidade grave (grau II e grau III), definidas pelo IMC ≥ 35,0 kg/m^2 e ≥ 40,0 kg/m^2, respectivamente, são uma grave condição crônica de saúde, muitas vezes irreversível, que tem aumentado sua prevalência nas últimas décadas. De acordo com a pesquisa VIGITEL 2016 (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico), o excesso de peso já atinge 53,8% da população

adulta brasileira e a obesidade é encontrada em cerca de 18,9% dos adultos. A projeção mundial é que, em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso; e mais de 700 milhões, com obesidade, além disso, estima-se que aproximadamente 2,8 milhões de mortes por ano estejam associadas à obesidade.

Esta doença apresenta caráter multifatorial e resulta da interação de fatores genéticos, metabólicos, ambientais, culturais, sociais e econômicos (KOLOTKIN et al., 2011). Em maior parte, o excesso de peso está associado com o desequilíbrio entre o consumo alimentar e o gasto energético (FRANCISCHI et al., 2000). A mudança do estilo de vida atual decorrente da crescente urbanização, rápido avanço tecnológico e a disponibilidade de alimentos com alta densidade energética promovem ingestão calórica excessiva associada a redução da prática de atividade física, o que gera o acúmulo excessivo de gordura corporal (MONDINI; MONTEIRO, 1998; KAC; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, 2003).

O sobrepeso e obesidade são condições que aumentam substancialmente o risco para o desenvolvimento de uma série de doenças crônicas como hipertensão, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias (FINGERET; MARQUES-VIDAL; VOLLENWEIDER, 2018), insuficiência cardíaca (HORWICH & FONAROW & CLARK, 2018), osteoartrite (KULKARNI et al., 2016), apneia do sono (RAVEENDRAN & WONG & CHUNG, 2017), problemas respiratórios (BANERJEE & HEIDEN, 2018) e câncer de mama (BANDERA et al., 2015).

1.5.2. Tratamento da obesidade

A obesidade está associada ao aumento da morbidade e mortalidade, sendo que indivíduos com obesidade apresentam uma expectativa de vida de 8 a 20 anos menor do que indivíduos eutróficos (FONTAINE et al., 2003; WHITLOCK et al., 2009). Neste contexto, a perda de peso significativa acarreta na redução da mortalidade, por estar associada a melhora das comorbidades (RYAN; KAHAN, 2018).

Assim, o tratamento da obesidade tem como objetivo a perda substancial de peso e o seu controle a longo prazo. O tratamento clínico que envolve modificações no estilo de vida associadas a uma dieta restritiva, prática de atividade física e farmacoterapia, em algumas circunstâncias, pode não ser totalmente eficaz, sendo necessária a intervenção cirúrgica (LYSEN; ISRAEL, 2013). Atualmente, a cirurgia bariátrica é a modalidade de tratamento mais eficaz para alcançar reduções

substanciais de peso e reduções demonstráveis na mortalidade (SJOSTROM, 2013; PUZZIFERRI et al, 2014).

De acordo com a mais recente pesquisa da Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica (SBCBM) foram realizadas 105.642 mil cirurgias no ano de 2017 no país, ou seja, 5,6% a mais do que em 2016, quando 100 mil pessoas fizeram o procedimento no setor privado. Pelo SUS, entre os anos de 2008 e 2017, o número de cirurgias bariátricas cresceu 215% (SBCBM, 2018).

A cirurgia bariátrica é indicada para indivíduos com IMC ≥ 40 kg/m², independente da presença de comorbidades; com IMC entre 35 e 40 kg/m² na presença de comorbidades ou com IMC ≥ 30 kg/m² associado à comorbidades consideradas “graves” por um médico especialista na respectiva área da doença. Tais indivíduos devem apresentar IMC estável há pelo menos dois anos e comorbidades em faixa de risco, além de ter apresentado insucesso na realização de tratamentos convencionais prévios e apresentar avaliação favorável da capacidade psíquica de suportar transformações radicais de comportamento impostas pelo procedimento (SBCBM, 2018).

Dentre as técnicas cirúrgicas, a gastroplastia com derivação gastro-jejunal associada a uma derivação em formato de Y, conhecida como derivação gástrica em Y de Roux (DGYR) é considerada padrão ouro por associar a redução do volume gástrico à disabsorção (LYSEN; ISRAEL, 2013). Na DGYR há criação de uma pequena bolsa estomacal que leva à saciedade precoce combinada com o *bypass* do estômago, duodeno e até 200 cm de jejuno, levando à má absorção (WELEDJI, 2016). Esse procedimento está associado ao sucesso terapêutico, baixa morbidade e à melhora dos distúrbios respiratórios, da hipertensão arterial sistêmica e do diabetes tipo II (SJOSTROM, 2013; PUZZIFERRI et al., 2014).

A intervenção cirúrgica, devido seu componente disabsortivo, se não devidamente monitorada, acarreta em deficiência de micronutrientes como, por exemplo, ferro, vitamina B12, ácido fólico e cálcio (LE ROUX; HENEGHAN, 2018). Desta maneira, ressalta-se que o procedimento cirúrgico promove modificações na anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal, levando a alterações no processo de absorção e na quantidade e qualidade da dieta ingerida, propiciando significativa perda de peso (GOLZARAND; TOOLABI; DJAFARIAN, 2018).

Os dados supracitados evidenciam que a obesidade, seu estado inflamatório crônico e estresse oxidativo associados estão interligados com o encurtamento dos

telômeros. Ainda são poucos os estudos que avaliam o papel do procedimento cirúrgico como tratamento para a obesidade no comprimento dos telômeros e no perfil gênico do complexo *shelterin*. Assim, o presente estudo testa a hipótese de que a DGYR, devido suas melhoras metabólicas, é capaz de aumentar o comprimento dos telômeros de mulheres com obesidade. E, adicionalmente, que a DGYR promova alteração na expressão dos genes *POT1, TRF1* e *TRF2* presentes no complexo *shelterin.*

Justificativa

2. JUSTIFICATIVA

A preocupação com o crescente aumento da prevalência da obesidade e de sua influência no desenvolvimento de outras comorbidades leva a necessidade de meios de prevenção e tratamento dessa doença, para isso, é fundamental a compreensão de fatores genéticos associados. O comprimento dos telômeros tem sido objeto de estudos por muitas décadas, na tentativa de elucidar o seu papel em processos fisiológicos, no processo do envelhecimento e em diversas doenças. Porém, até a presente data, não está totalmente esclarecido na literatura o comportamento dos telômeros, assim como o uso prático da de sua medida como um biomarcador na obesidade. Desta maneira, é fundamental o conhecimento da relação entre a obesidade, assim como com o tratamento cirúrgico e os telômeros, os quais estão intimamente associados com envelhecimento e carcinogênese.

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o comprimento dos telômeros e a expressão dos genes *POT1, TRF1* e *TRF2* em mulheres com obesidade antes e após seis meses da realização da DGYR e em mulheres eutróficas.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar dados antropométricos, de composição corporal e de ingestão alimentar em mulheres com obesidade antes e após seis meses da realização da DGYR e em mulheres eutróficas;
- Avaliar o comprimento dos telômeros em mulheres com obesidade antes e após seis meses da realização da DGYR e em mulheres eutróficas;
- Correlacionar o comprimento dos telômeros com as variáveis antropométricas, de composição corporal, ingestão alimentar e perda de peso;
- Verificar a expressão das proteínas *POT1, TRF1* e *TRF2* em mulheres com obesidade antes e após seis meses da realização da DGYR e em mulheres eutróficas;
- Avaliar a relação entre o comprimento dos telômeros e a expressão dos genes *POT1, TRF1* e *TRF2*.

Casuística e Métodos

4. CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1. Casuística

O presente estudo foi realizado com pacientes do sexo feminino, de população miscigenada, com idade entre 30 e 45 anos. As participantes foram distribuídas em dois grupos: 1. Grupo Cirurgia Bariátrica: mulheres com obesidade (IMC≥30 kg/m²) que realizaram cirurgia bariátrica pela técnica de DGYR e 2. Grupo Controle: mulheres eutróficas (IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m²).

As mulheres com obesidade foram selecionadas no Centro de Cirurgia Bariátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), seguindo os critérios de inclusão para o procedimento cirúrgico, estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica. Já, para o grupo controle foram selecionadas mulheres com classificação nutricional de eutrofia, de acordo com o IMC (OMS, 2004).

4.2. Aspectos Éticos

As participantes do estudo tiveram conhecimento a respeito do protocolo da pesquisa, sendo incluídas as que estiveram de acordo com a sua realização. A pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP (Processo nº 14997/2016) (ANEXO A).

4.3. Critérios de exclusão

Foram excluídas pacientes que apresentaram modificação da técnica cirúrgica padrão, gestantes e lactantes durante os seis meses de seguimento, tabagistas, etilistas e usuárias de drogas ilícitas.

4.4. Cirurgia bariátrica

O procedimento cirúrgico consistiu na criação de uma pequena porção gástrica (30 a 50 ml) e uma anastomose do coto gástrico com o jejuno (ambas alças

remanescentes medindo cerca de 100 cm), o que caracteriza a DGYR. Todos os procedimentos cirúrgicos foram realizados pela Equipe de Cirurgia Bariátrica do HCFMRP-USP.

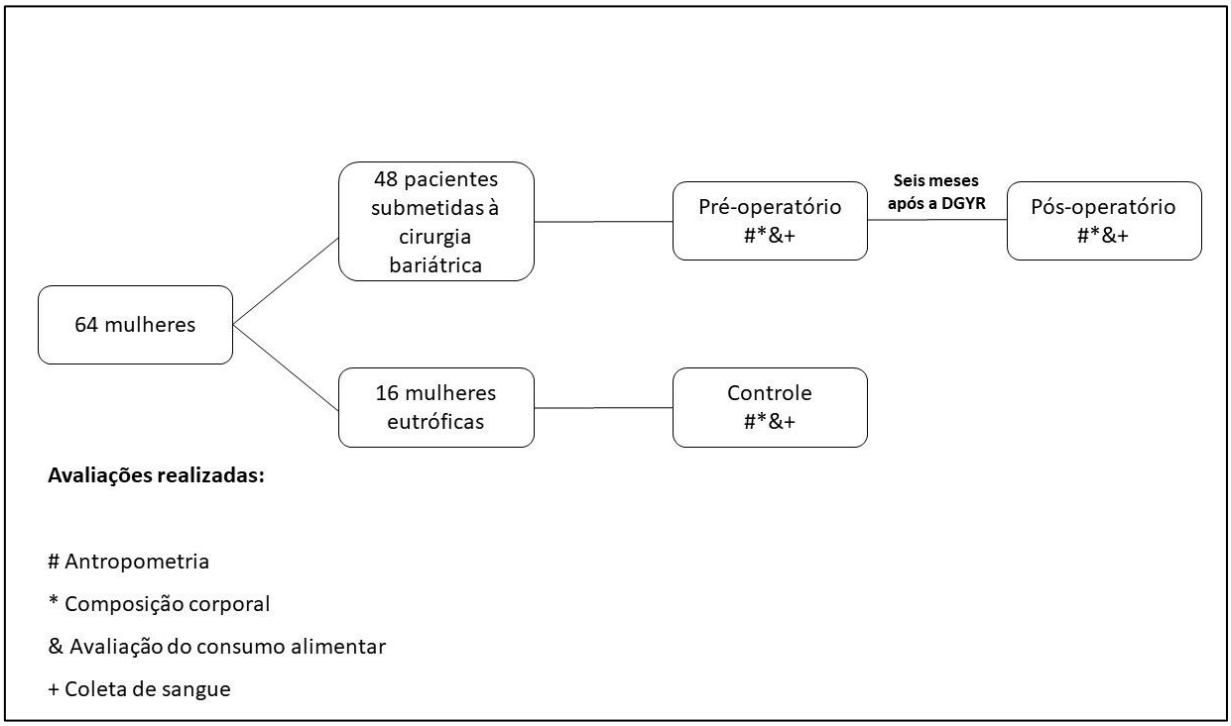
4.5. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo longitudinal prospectivo, no qual o Grupo Cirurgia Bariátrica foi avaliado em dois períodos: antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.

No momento da internação para a realização da cirurgia foram coletados os dados do período pré-operatório (um dia antes do procedimento cirúrgico). Após seis meses, as pacientes foram convidadas a retornarem ao hospital para a coleta dos dados do pós-operatório. No período pré-operatório avaliou-se a presença de outras comorbidades como diabetes mellitus, dislipidemias e hipertensão arterial. Ainda, em cada momento foram coletados dados de antropometria, composição corporal, ingestão alimentar e coleta de material sanguíneo para análise dos indicadores bioquímicos, do comprimento do telômero e expressão gênica.

A avaliação do grupo controle aconteceu em um único momento, na qual foram realizados todos os procedimentos descritos anteriormente. Todas as coletas foram realizadas na Unidade Metabólica do HCFMRP-USP (Figura 3).

Figura 3. Delineamento experimental do estudo.



DGYR: derivação gástrica em Y de Roux.

4.6. Avaliação de hábitos de vida e presença de comorbidades

Foi aplicado um questionário contendo informações sobre hábitos etilistas e tabagistas, presença de comorbidades como: diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia e hipotireoidismo (ANEXO B).

4.7. Avaliação nutricional

4.7.1. Antropometria

A aferição do peso foi realizada com as pacientes descalças e vestindo roupas leves, em balança digital “Filizola” do tipo plataforma, com capacidade para 300 kg e precisão de 0,2 Kg. Para aferição da estatura foi utilizada uma haste vertical com graduação de 0,5 cm. Os indivíduos ficaram na posição ortostática, descalços, pés juntos, costas retas e braços estendidos ao longo do corpo. O cálculo do IMC foi realizado ao dividir o peso do indivíduo (em quilogramas) pela altura (em metros) ao quadrado. A aferição da circunferência abdominal foi realizada com o indivíduo em pé

e a medida obtida a partir da cicatriz umbilical com auxílio de fita métrica inextensível com graduação de 0,1 mm. Para análise da perda de peso (em kg e %) realizou-se a diferença do peso pré-operatório em relação ao peso no período pós-operatório;

4.7.2. Avaliação da composição corporal

A avaliação da composição corporal foi realizada utilizado o método de bioimpedância elétrica (BIA). O paciente recebeu orientação de não consumir bebidas alcoólicas e realizar prática de exercícios físicos até oito horas prévias. O exame foi realizado em jejum de, pelo menos, quatro horas com a bexiga urinária vazia e fora do período menstrual.

O indivíduo foi orientado a permanecer em posição supina, em superfície não condutora, descalço e com os membros superiores separados do tronco em cerca de 30º e membros inferiores separados por cerca de 45º. Os eletrodos foram posicionados do mesmo lado do corpo, nas mãos e nos pés higienizados com álcool (Figura 4).

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

Foram mensurados valores de resistência (R) e reactância (Xc). A partir de fórmulas específicas para indivíduos com obesidade grave foi estimada a água corporal total (litros), massa livre de gordura (kg) (JAKICIC; WING; LANG, 1998). Para obtenção dos valores de massa gorda (MG), foi subtraída a quantidade de MCM (kg) do peso total (kg).

4.7.3. Avaliação do consumo alimentar

Foram coletados três recordatórios de 24 horas (R24h), sendo dois em dias da semana não consecutivos e um de final de semana. No dia da coleta foi realizado um recordatório e os outros foram realizados por telefone. Os dados dos R24h foram analisados utilizando o Programa Dietbox, para avaliação da ingestão energética, de macronutrientes (carboidrato, lipídios e proteína).

4.8. Coleta de sangue

Foram coletados quatro tubos de sangue, sendo um com gel separador para análise bioquímica e outros três contendo EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) para extração de DNA e RNA.

4.9. Avaliação bioquímica

Foram realizadas análises dos indicadores bioquímicos: glicemia de jejum, colesterol total, HDL colesterol (HDL-colesterol), LDL colesterol (LDL-colesterol) e triglicérides (TG). Foram adotados os valores de referência padronizados no sistema HCFMRP-USP, descritos no Quadro 1.

Quadro 1. Valores de referência de indicadores bioquímicos utilizados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

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

mg: miligrama; dL: decilitro; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade.

4.10. Análise do comprimento dos telômeros

4.10.1. Extração de DNA

O sangue foi inicialmente centrifugado por 10 minutos a 1500 rpm. O “buffy-coat” (“papa de leucócitos”) foi recuperado e transferido para dois tubos de 2 ml (aproximadamente 500 µl em cada tubo) ao qual foi adicionado volume igual de tampão de lise DTAB 12% (brometo de dodeciltrimetilamônio). Os tubos foram então homogeneizados e incubados em banho-maria a 65ºC por 5 minutos. Dois volumes de clorofórmio foram adicionados e os tubos agitados.

Após centrifugação por 2 minutos a 10.000 rpm, a camada superior (aquosa) na qual estava o DNA foi recuperada e, nela, adicionados dois volumes de CTAB 0,5% (brometo de hexadecilmetilamônio). Esta mistura foi homogeinizada até obtenção do precipitado DNA/CTBA. Após uma nova centrifugação por 2 minutos a 10.000 rpm, o “pellet” DNA/CTBA foi ressuspenso em 300 mµl de NaCl 1,2 M (cloreto de sódio) e reprecipitado em 750 µl de etanol absoluto. Foi centrifugado por mais 2 minutos a 13.00 rpm e o “pellet” foi ressuspenso em etanol 70% para retirada do excesso de sal. Uma última centrifugação foi realizada por 2 minutos a 13.000 rpm e, o sobrenadante então, desprezado e o DNA obtido.

4.10.2. Análise do comprimento dos telômeros

A quantificação do comprimento da região telomérica foi realizada por meio da amostra de DNA extraído do sangue periférico, a partir da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction)* em tempo real quantitativo, padronizada e adaptada por meio do método descrito por Cawton (2002).

Os *primers* foram desenhados a partir da sequência de interesse como descritos no Quadro 2. As reações de PCRs foram realizadas em placas de 96 poços usando o equipamento 7500 Fast Real Time PCR System (Applied Biosystems®). Para a reação, o kit SYBR® Green PCR Mastermix (Qiagen) foi usado em um volume final de 20 ul. A concentração de amostras e dos *primers* foi modificada a partir do protocolo original: foram utilizados 700 nM de cada primer e 20 nM de DNA (valores selecionados a partir da curva padrão). Todas as análises foram realizadas em

triplicata e verificada a concordância dos valores (valores maiores que 10% foram reanalisados).

Quadro 2. Sequência dos primers utilizados na reação de PCR em tempo real.	
Primer	**Sequência**
Tel 1	5'-GGTTTTTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGT-3
Tel 2	5'-TCCCGACTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTA-3'
36B4u	5'-CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA-3'
36B4d	5'-CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC-3'

O comprimento do telômero foi obtido por meio da razão relativa (razão T/S) entre o número de cópias da região telomérica (T) e o número de cópias de um gene de cópia única (S), por meio da curva-padrão relativa. A razão entre T/S para cada amostra foi calculada a partir da seguinte fórmula: $2^{-\Delta Ct\ (telômero)\ -\ \Delta Ct\ (gene\ de\ cópia\ única)} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$, seguindo os parâmetros de SCHEINBERG et al. (2010). Neste ensaio, o gene 36B4 (*acidic ribosomal phosphoprotein P0*) foi utilizado como gene de cópia única.

4.11. Análise da expressão gênica

4.11.1. Extração de RNA

O RNA foi extraído a partir do sangue total utilizando o método de extração fenolclorofórmio descrito por Chomczynski & Sacchi (1987), a partir de 1,0 mL de Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). A integridade do RNA foi avaliada por meio de eletroforese em gel de agarose 3%. O RNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro por fluorescência (Qubit® 2.0 Spectrophotometer), e a absorbância foi medida nos comprimentos de onda de 260/280 e 230nm, para avaliação do grau de pureza. As amostras de RNA foram armazenadas à -80°C em alíquotas, garantindo estabilidade e preservação do RNA, evitando, dessa forma, a degradação do material a cada descongelamento.

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

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

4.11.3. Análise de Expressão Gênica – PCR em tempo real (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 quantificar a expressão relativa dos genes *POT1*, *TRF1, TRF2* foram utilizadas as sondas de hidrólise descritas no Quadro 3.

Quadro 3. Sondas de hidrólise para os genes avaliados no presente estudo.

Gene	Sonda
POT1	Hs00209984_m1
TERF1	Hs00819517_mH
TERF2	Hs01030567_m1

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

4.11.4. Controle endógeno

Dois genes de referência (*GAPDH* e *β-actina*) (Quadro 4) foram utilizados com o objetivo de normalizar a expressão dos mRNAs dos genes analisados para diferenças na quantidade e qualidade de RNA, além da verificação de eficiência da reação de transcrição reversa entre as amostras. Esses genes são frequentemente utilizados em estudos para determinar o melhor normalizador para as amostras analisadas. Os genes de referência foram amplificados e detectados por sonda TaqMan MGB 6-FAM fluorogênicas (Applied Biosystems), seguindo instruções do fabricante.

Quadro 4. Sondas de hidrólise para os genes de referência selecionados para o presente estudo.	
Gene	**Sonda**
β-actina	Hs99999903_m1
GAPDH	Hs99999905_m1

4.12. Análise estatística

O teste de *Shapiro-Wilk* foi utilizado para verificar a normalidade dos dados e a estatística descritiva foi utilizada com os valores apresentados em média e desvio padrão. A comparação dos momentos pré e pós-operatório foi realizada pelo teste t pareado ou *Mann-Whitney*. A comparação dos grupos Cirurgia Bariátrica e Controle foi realizada pelo test t para amostras independentes ou *Wilcoxon*. Foram utilizados a correlação de Pearson e modelos de regressão para associar as variáveis antropométricas, de composição corporal e do consumo alimentar com o comprimento dos telômeros e da expressão gênica.

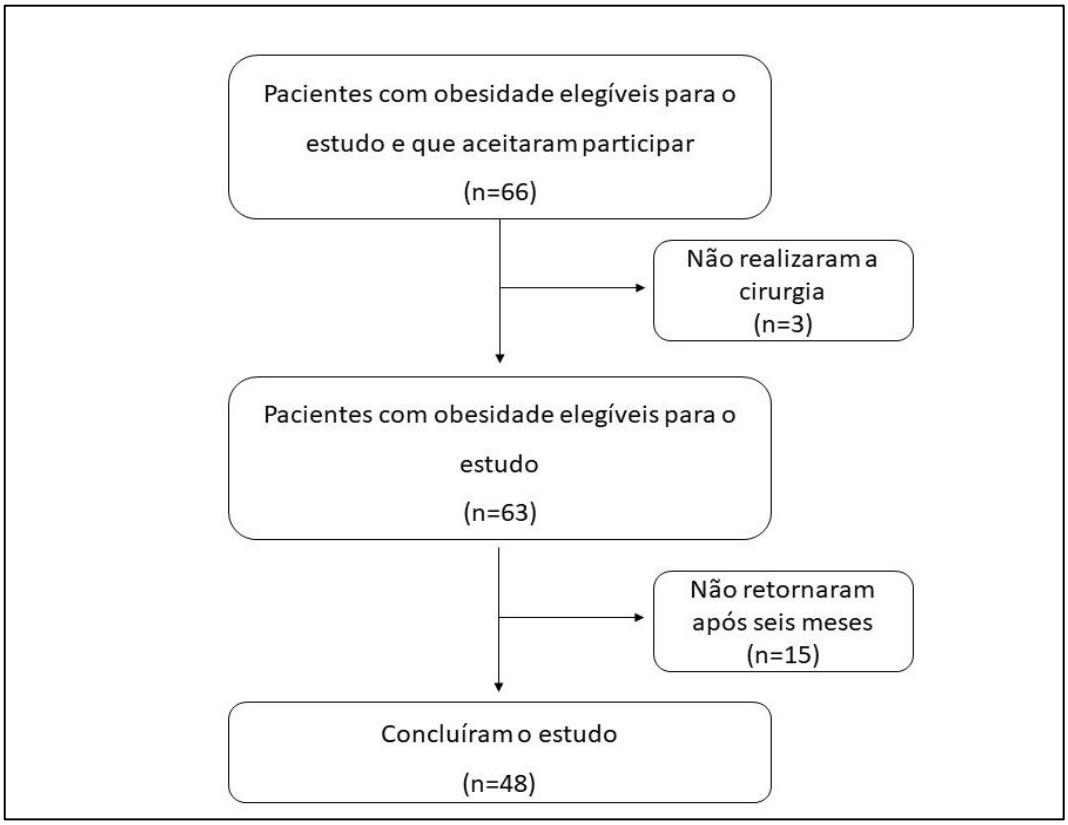
A significância estatística foi estabelecida em $p<0,05$, sendo todas as análises realizadas no software *Statistical Package for Social Science* (SPSS versão 20.0 [Inc. Chicago. IL]).

Resultados

5. RESULTADOS

Participaram do presente estudo 64 mulheres, sendo 48 com obesidade, com média de idade de 39±8,5 anos que foram submetidas ao procedimento cirúrgico pela DGYR e 16 mulheres eutróficas (grupo controle), com média de idade de 32,2±6,6 anos.

Figura 5. Fluxograma das pacientes com obesidade selecionadas para o estudo.



Na Tabela 1 estão descritas as informações de hábitos de vida e presença de comorbidades. As participantes de ambos os grupos não eram tabagistas e/ou etilistas e as do grupo controle não apresentavam comorbidades. Entre as mulheres com obesidade, notou-se maior prevalência de hipertensão (47,9%), seguido de diabetes (20,8%), dislipidemia (14,5%) e hipotireoidismo (12,5%).

Tabela 1. Hábitos de vida e presença de comorbidades de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.

	Controle (n=16)		Mulheres com obesidade (n=48)	
	n	**%**	**n**	**%**
Tabagismo	0	0	0	0
Etilismo	0	0	0	0
DM	0	0	10	21
HAS	0	0	23	48
DLP	0	0	7	15
Hipotireoidismo	0	0	6	13

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

Na Tabela 2 estão descritas as variáveis de antropometria e de composição corporal. Como esperado, foram observadas diferenças significantes nas variáveis de peso, IMC, CA, MLG e MG entre as mulheres eutróficas e aquelas com obesidade (todos os valores foram maiores nesse último grupo). Observou-se também redução de tais parâmetros com a realização da cirurgia bariátrica (pré *versus* pós-operatório).

A média de perda de peso foi de 26±9,8 kg, equivalente a 24±11,9% do peso pré-operatório. Entre as pacientes com obesidade, 62,5% foram classificadas com obesidade grau III e após seis meses da DGYR apenas 6,25% das pacientes permaneceram nessa classificação.

Tabela 2. Antropometria e composição corporal de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.

	Controle (n = 16)	**Pré-operatório (n = 48)**	**Pós-operatório (n = 48)**
Peso (kg)	60,8 ± 4,5	109,3 ± 18,2[a]	85,1 ± 13,3[a,b]
Estatura (m)	1,65 ± 0,1	1,61 ± 0,1	
IMC (kg/m^2)	22,3 ± 1,5	41,9 ± 5,6[a]	32,6 ± 4,3[a,b]
CA (cm)	76,9 ± 6,9	122,2 ± 14,1[a]	105,2 ± 11,6[a,b]
MLG (kg)	43,4 ± 2,9	55,5 ± 5,6[a]	50,8 ± 4,4[a,b]
MLG (%)	71,4 ± 3,4	51,0 ± 4,4[a]	60,2 ± 5,4[a,b]
MG (kg)	17,5 ± 3,0	54,6 ± 13,6[a]	34,6 ± 9,7[a,b]
MG (%)	26,8 ± 7,9	48,9 ± 4,4[a]	39,7 ± 5,4[a,b]
AF (º)	7,0 ± 1,12	7,0 ± 0,9	6,1 ± 1,5

kg: quilograma; m: metro; cm: centímetro; IMC: índice de massa corporal; CA: circunferência abdominal; MLG: massa livre de gordura; MG: massa gorda; AF: ângulo de fase. a: $p<0,05$ em relação ao controle; b: $p<0,05$ em relação ao pré-operatório.

A Tabela 3 mostra a análise do consumo alimentar das pacientes antes e após a DGYR e das mulheres eutróficas. Não houve diferença no consumo de energia, carboidrato, proteínas e lipídios entre os momentos pré e pós-operatório. Quando comparado ao grupo controle, observou-se um menor consumo calórico, de carboidratos (g) e lipídios (g) das mulheres com obesidade.

Tabela 3. Consumo alimentar de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.

	Controle (n=16)	**Pré-operatório (n=48)**	**Pós-operatório (n=48)**
Energia (kcal)	1805,4 ± 435,4	1151,5 ± 407,5[a]	968,4 ± 271,1[a]
Carboidrato (g)	215,2 ± 70,8	136,4 ± 60,2[a]	112,6 ± 52,9[a]
Carboidrato (%VCT)	47,4 ± 6,6	48,5 ± 16,1	46,1 ± 10,8
Proteína (g)	79,3 ± 21,7	66,3 ± 25,4	61,3 ± 29,5
Proteína (%VCT)	18,0 ± 4,3	23,2 ± 6,6	25,2 ± 9,1
Lipídio (g)	67,2 ± 20,9	38,1 ± 17,4[a]	30,6 ± 11,8[a]
Lipídio (%VCT)	33,4 ± 6,1	28,8 ± 10,1	29,0 ± 8,5

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

Na Tabela 4 estão descritos os resultados dos indicadores bioquímicos da população estudada. Houve diminuição significante da glicemia, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides após 6 meses da DGYR. Quando comparado ao controle, houve menores concentrações séricas de HDL-colesterol nos momentos pré e pós-operatório e maiores concentrações de triglicérides no pós-operatório.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de mulheres eutróficas (controle) e com obesidade antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.

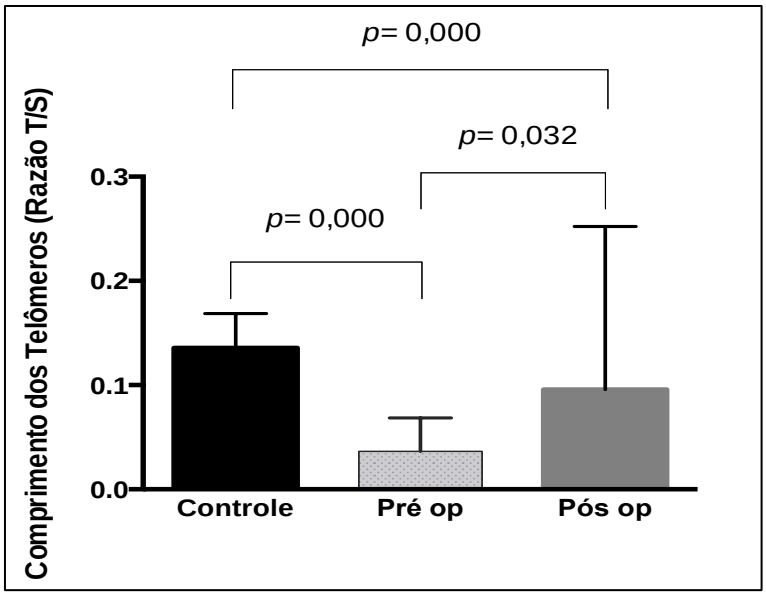
	Controle (n=16)	**Pré-operatório (n=48)**	**Pós-operatório (n=48)**
Glicemia jejum (mg/dL)	82,8 ± 7,5	95,4 ± 22,5	85,1 ± 10,2[b]
Colesterol total (mg/dL)	160,6 ± 25,4	171,9 ± 40,4	159,0 ± 29,9[b]
HDL-colesterol (mg/dL)	54,3 ± 10,5	42,7 ± 8,8[a]	46,2 ± 11,2[a,b]
LDL-colesterol (mg/dL)	92,5 ± 23,4	104,0 ± 31,5	96,1 ± 25,1[b]
Triglicérides (mg/dL)	68,9 ± 35,8	113,3 ± 50,3[a]	81,4 ± 27,3[b]

mg: miligrama; dL: decilitro; HDL: lipoproteína de alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; a: $p<0,05$ em relação ao controle; b: $p<0,05$ em relação ao pré-operatório.

A análise do comprimento dos telômeros está apresentada na Figura 6. As mulheres eutróficas (controle) apresentaram maior CT quando comparadas as

mulheres com obesidade. Houve aumento significante do CT após seis meses DGYR, porém, ainda se mantiveram menores que o grupo controle.

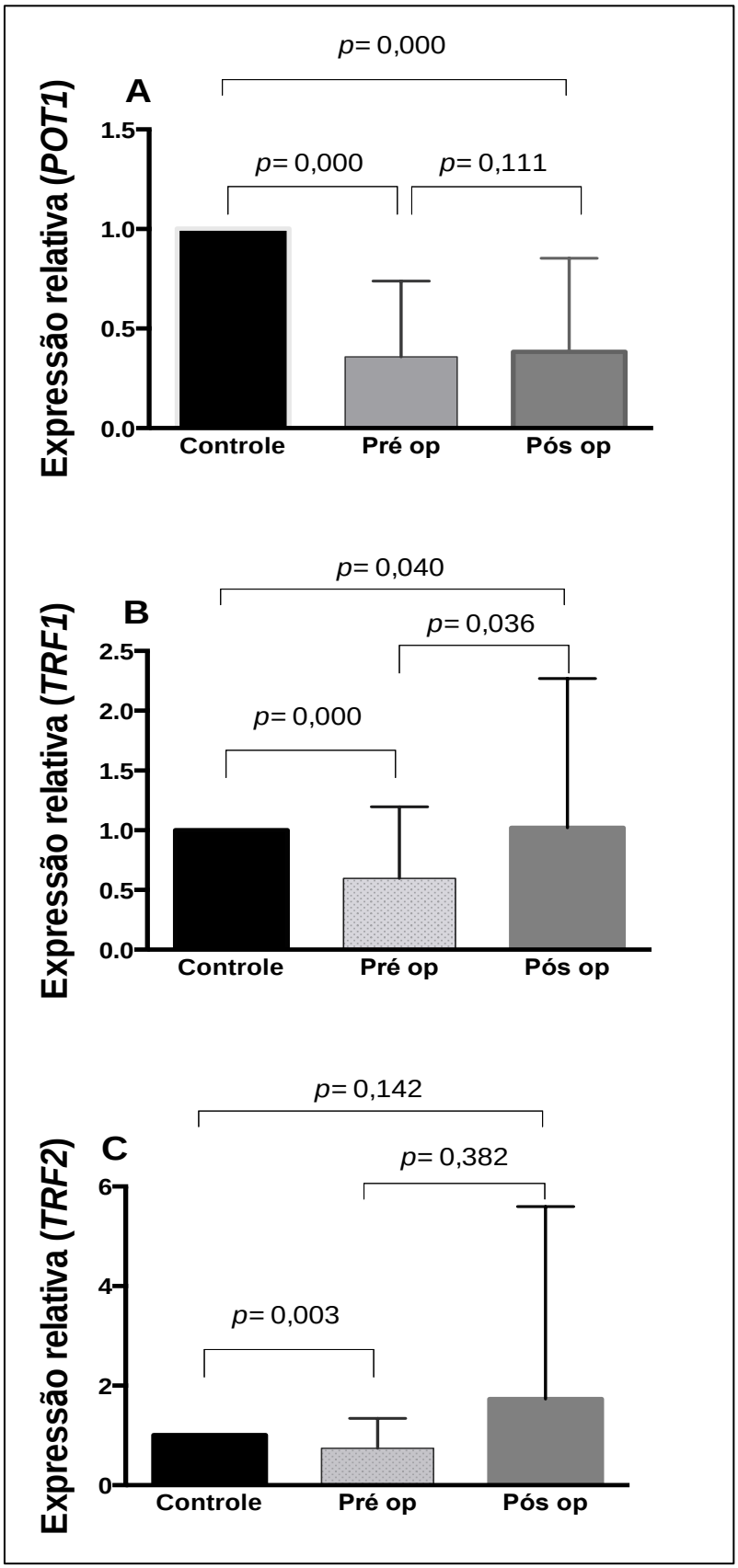
Figura 6. Análise do comprimento dos telômeros em mulheres eutróficas e pacientes antes e após seis meses do procedimento cirúrgico.



Pré op: pré-operatório; pós op: pós-operatório; p<0,05.

A expressão dos genes *POT1, TRF1 e TRF2* estão apresentadas na Figura 7. Observou-se maior expressão do gene *POT1* no grupo controle quando comparado a mulheres com obesidade antes e após o procedimento cirúrgico. Não houve diferença significante entre os momentos pré e pós-operatório. A análise do *TRF1* mostrou uma menor expressão em mulheres com obesidade quando comparadas ao grupo controle e um aumento significante após 6 meses da cirurgia. A expressão do *TRF2* foi semelhante entre as mulheres eutróficas e com obesidade.

Figura 7. Expressão gênica relativa em mulheres antes e após seis meses do procedimento cirúrgico e mulheres eutróficas (controle). A: *POT1*; B: *TRF1*; C: *TRF2.*



Pré op: pré-operatório; pós op: pós-operatório; p<0,05.

A tabela 5 mostra a análise da correlação do CT com as variáveis antropométricas, sendo que não houve correlação significante, incluindo a perda de peso.

Tabela 5. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com as variáveis antropométricas.

	Comprimento dos telômeros (Razão T/S)			
	Pré-operatório		**Pós-operatório**	
Variáveis	**r**	***p***	**r**	***p***
Peso (kg)	-0,145	0,332	-0,042	0,801
IMC (kg/m²)	-0,227	0,126	0,042	0,802
CA (cm)	-0,212	0,156	-0,024	0,802
MLG (kg)	-0,253	0,102	0,036	0,834
MG (kg)	-0,170	0,253	0,064	0,703

r: coeficiente de correlação; kg: quilograma; m: metro; cm: centímetro; IMC: índice de massa corporal; CA: circunferência abdominal; MLG: massa livre de gordura; MG: massa gorda; kcal: quilocaloria; g: gramas; p<0,05.

A análise da correlação do CT com o consumo alimentar está apresentada na tabela 6. Houve uma correlação negativa entre ingestão de carboidrato com o CT no pré-operatório.

Tabela 6. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com o consumo alimentar.

	Comprimento dos telômeros (Razão T/S)			
	Pré-operatório		**Pós-operatório**	
Variáveis	**r**	***p***	**r**	***p***
Energia (kcal)	-0,204	0,185	0,157	0,416
Carboidrato (g)	**-0,300**	**0,048**	0,072	0,709
Proteína (g)	-0,048	0,759	-0,049	0,800
Lipídio (g)	0,015	0,925	-0,039	0,840

r: coeficiente de correlação; kcal: quilocaloria; g: gramas; p<0,05.

A análise da correlação do CT com os parâmetros bioquímicos está apresentada na tabela 7. Observou-se correlação significante com as concentrações séricas de triglicérides.

Tabela 7. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com os parâmetros bioquímicos.

	Comprimento dos telômeros (Razão T/S)			
	Pré-operatório		**Pós-operatório**	
Variáveis	**r**	***p***	**r**	***p***
Glicemia (mg/dL)	0,211	0,159	-0,040	0,813
Colesterol total (mg/dL)	0,149	0,347	0,018	0,916
HDL-c (mg/dL)	0,279	0,074	0,258	0,123
LDL-c (mg/dL)	0,125	0,449	-0,023	0,896
Triglicérides (mg/dL)	-0,207	0,194	**-0,401**	**0,014**

r: coeficiente de correlação; mg: miligrama; dL: decilitro; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; p<0,05.

A Tabela 8 mostra a análise de regressão linear entre as concentrações de triglicérides e comprimento dos telômeros. Observou-se contribuição independente das alterações de TG no aumento do CT, mesmo quando ajustado por idade.

Tabela 8. Análise de regressão linear ajustada pela idade mostrando a contribuição das modificações das concentrações de triglicérides no comprimento dos telômeros.

	β	**r^2**	***p***	**IC 95%**
Comprimento dos telômeros	-0,484	0,212	0,001	(-0,002; -0,001)

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

A correlação do CT com a expressão dos genes *POT1, TRF1 e TRF2* está descrita na Tabela 9. Houve correlação positiva do CT com a expressão gênica do *TRF1* no pré-operatório.

Tabela 9. Análise da correlação do comprimento dos telômeros com a expressão dos genes *POT1, TRF1 e TRF2*.

	Comprimento dos telômeros (Razão T/S)			
	Pré-operatório		**Pós-operatório**	
Variáveis	**r**	***p***	**r**	***p***
POT1	-0,247	0,214	-0,338	0,085
TRF1	**0,328**	**0,041**	-0,136	0,444
TRF2	-0,223	-0,179	-0,280	0,121

r: coeficiente de correlação; $p<0,05$.

Discussão

6. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou redução dos parâmetros antropométricos e bioquímicos, assim como aumento do comprimento dos telômeros e da expressão gênica do *TRF1* após seis meses da DGYR. Além disso, o comprimento do telômeros e a expressão de *POT1*, *TRF1* e *TRF2* de indivíduos com obesidade foram menores do que de mulheres eutróficas.

O aumento do número de indivíduos com obesidade, juntamente com o aumento do número de não respondedores a programas de redução de peso, levou à evolução e sucesso da cirurgia bariátrica (PICOT et al., 2009; HENKEL et al., 2017). Embora este tratamento tenha sido inicialmente concebido apenas para perda de peso, a cirurgia bariátrica evoluiu desde então, para um tratamento da melhora do controle metabólico (LE ROUX; HENEGHAN, 2018).

Como visto neste estudo, as pacientes apresentaram perda média de peso de 26 kg, equivalente a 24% do peso inicial, corroborando com os dados obtidos por Ivaska et al. (2017) e Viljanen et al. (2018) que observaram após seis meses da DGYR, redução de 22,9% e 22,8% do peso pré-operatório, respectivamente. Consequentemente, as pacientes apresentaram uma redução de 23,8% do IMC, corroborando com Berisha et al. (2011), que obtiveram uma redução de 21%. Os mecanismos pelos quais a DGYR induz efetiva perda de peso e melhora da condição metabólica do indivíduo inclui a diminuição da capacidade gástrica com consequente redução da ingestão alimentar; redução da taxa de esvaziamento gástrico, além da má absorção de nutrientes, principalmente de gordura (SANDOVAL, 2011).

Houve redução média de 17 cm da circunferência abdominal após a DGYR, entretanto, não foi suficiente para atingir o padrão recomendado pela Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (Diretrizes Brasileiras de Obesidade, 2009). Chiappetta et al. (2018) evidenciaram uma redução média de 26,4 cm, assim como Heffron et al. (2017) mostraram redução de 24 cm após seis meses do procedimento cirúrgico. A obesidade abdominal é um fator de risco bem conhecido para o desenvolvimento de doenças cardiometabólicas, pois reflete o acúmulo de gordura ectópica e a resistência à insulina (LIM, 2014). Esse tipo de obesidade tem sido associado, por meio de estudos epidemiológicos, a um maior risco de doenças como: resistência à insulina, diabetes tipo 2 e hipertensão, aumentando o risco cardiovascular (GÓMEZ-HERNÁNDEZ et al., 2016).

Em relação à análise da composição corporal de mulheres com obesidade submetidas à DGYR, observou-se, que além da perda de peso e redução de MG (23 kg), houve também a redução da MLG (5 kg). Dados semelhantes foram observados no estudo de Crisp et al. (2018) que evidenciaram similar redução de MLG e 24,7 kg de MG após seis da DGYR. Nossos dados mostraram que a perda de massa gorda foi o principal contribuinte para a redução da massa corporal, evidenciando uma eficácia positiva na composição corporal após seis meses do procedimento cirúrgico.

Neste estudo, o consumo habitual de calorias, carboidratos e lipídios de mulheres com obesidade foi menor que do grupo controle. Esses dados são contraditórios aos indicadores antropométricos destas pacientes e a possível explicação é o sub relato nos recordatórios alimentares. Nonino et al. (2007) mostraram que ao oferecer um esquema alimentar de 2.500 kcal/dia para as pacientes que participaram de um programa de perda de peso, houve perda ponderal mesmo com relato alimentar fora do ambiente hospitalar de 2.110 kcal/dia. A omissão feita por essas pacientes é de grande complexidade por envolver fatores morais, emocionais, sociais, físicos e cognitivos (MCDIARMID; BLUNDELL, 1998). Adicionalmente, mulheres tendem a ter um maior sub relato, por serem mais preocupadas em relação ao seu peso e alimentação.

A análise dos indicadores bioquímicos do presente estudo mostrou que pacientes com obesidade (pré-operatório) apresentaram valores significantemente menores de HDL colesterol e maiores de triglicérides que mulheres eutróficas. Ainda, em seis meses, a DGYR propiciou redução das concentrações séricas de glicose, colesterol total, LDL colesterol e triglicérides, atingindo concentrações semelhantes à de mulheres eutróficas (exceto o HDL colesterol). Liakos et al. (2018) mostraram, ao comparar a DGYR com o *sleeve* gástrico, que a DGYR está associada a redução do colesterol total, triglicérides e menor glicemia pós-prandial em pacientes com obesidade grave após seis meses do procedimento cirúrgico.

De acordo com estudos prévios, essa melhora dos parâmetros metabólicos é de extrema importância para a diminuição do risco para doenças cardiometabólicas (OUYANG et al., 2015). De acordo com Schmatz et al. (2017), um mês após a cirurgia bariátrica, as concentrações de glicose diminuíram para condições normais (99 mg/dL) e permaneceram neste intervalo até 12 meses após a cirurgia. Esses resultados estão de acordo com vários estudos que demonstraram que a cirurgia bariátrica pode controlar de forma efetiva e segura o diabetes a curto e longo prazo, e

até prevenir sua ocorrência (KARRA; YOUSSEIF; BATTERHAM, 2010; SALA et al., 2014). É importante ressaltar que procedimentos cirúrgicos restritivos diminuem a ingestão de alimentos, levando a uma redução na carga glicêmica, contribuindo para a perda de peso e para a melhora do controle glicêmico (SCHMATZ et al., 2017).

No presente estudo, ao comparar o comprimento dos telômeros de mulheres eutróficas com o de pacientes com obesidade, verificou-se um menor CT entre as pacientes com obesidade. Ressalta-se que mesmo com um alongamento após seis meses da DGYR, tais pacientes permaneceram com o CT significante menor em relação ao grupo controle. O menor comprimento do CT em mulheres com obesidade em relação a mulheres eutróficas também vem sendo evidenciado em outros estudos (VALDES et al., 2005; NORDFJALL et al., 2008; KIM et al., 2009). Os mecanismos que associam a obesidade ao reduzido CT ainda não estão totalmente elucidados; e, o processo de estresse oxidativo associado ao acúmulo de tecido adiposo, assim como a secreção de citocinas inflamatórias por esse podem explicar tal fato.

Sabe-se que os telômeros vem sendo sugeridos como um biomarcador de envelhecimento (BEKAERT; DE MEYER; VAN OOSTVELDT, 2005; BLACKBURN; EPEL; LIN, 2015) e de doenças relacionadas à idade (SANDERS; NEWMAN, 2013), devido seu progressivo encurtamento com o passar do tempo e sensibilidade ao estresse oxidativo. O encurtamento também tem sido observado em diversas doenças crônicas, associado a estilos de vida pouco saudáveis e a eventos precoces de senescência celular (EPEL et al., 2004; WERNER et al., 2009; PAUL, 2011).

O acúmulo de adiposidade, e consequente aumento do estresse oxidativo, gera a desregulação de citocinas inflamatórias (HOUBEN et al., 2008; WOLKOWITZ et al., 2011), que são os principais fatores que podem explicar a associação entre o encurtamento dos telômeros e obesidade. O mecanismo pelo qual a obesidade gera um estado pró-inflamatório parece estar associado à hiperplasia e hipertrofia dos adipócitos, o que pode estar correlacionado com a hipóxia do tecido adiposo (CINTI et al., 2005). Esse processo induz o aumento da produção de adipocinas, levando a um estado inflamatório local e progressivamente, um estado pró-inflamatório sistêmico (KAUR, 2014). Os mecanismos que levam ao aumento do estresse oxidativo causado pela obesidade ainda não estão totalmente elucidados, mas provavelmente, há uma maior produção de espécies reativas de oxigênio e menor consumo de antioxidantes (SAVINI et al., 2013).

As espécies reativas são subprodutos do metabolismo aeróbico e da produção de adenosina trifosfato (ATP) nas mitocôndrias, as quais podem influenciar diretamente a sinalização celular e a homeostase (LAUFS et al., 2005). A desregulação na produção dessas espécies reativas pode induzir efeitos tóxicos, via dano de estruturas celulares, incluindo proteínas, lipídios e ácidos nucléicos (POLI et al., 2004). Devido ao seu alto teor de guaninas, os telômeros são altamente sensíveis a danos pelo estresse oxidativo (SITTE; SARETZKI; VON ZGLINICKI, 1998; KAWANISHI; OIKAWA, 2004). Consequentemente, telômeros curtos e disfuncionais são o ponto de partida para a senescência celular, morte celular e instabilidade do DNA (SHAMMAS, 2011). Ainda, a 8-Oxo-dG é a espécie reativa mais prevalente no DNA e presente em células oxidadas e senescentes (SIOMEK et al., 2007). A geração de 8-Oxo-dG cria quebras na fita simples do DNA, que podem ser reparadas de forma insatisfatória em algumas partes do cromossomo, como nos telômeros, causando instabilidade do genoma (HOUBEN et al., 2008; MARKKANEN, 2017).

O alongamento dos telômeros constatado após seis da DGYR corrobora com achados da literatura. Carulli et al. (2016) evidenciaram um alongamento do CT após seis meses da colocação do balão intragástrico. Além disso, Hohensinner et al. (2018) constataram aumento do CT após 24 meses da DGYR, em que o CT pós cirurgia duplicou em relação ao CT inicial. Considerando pós-operatório tardio, Laimer et al. (2016), evidenciaram um aumento significativo do CT em indivíduos com obesidade submetidos à cirurgia bariátrica após 10 anos do procedimento. Contraditoriamente, autores reportaram menor CT durante o primeiro ano pós-operatório da DGYR (FORMICHI et al., 2014). Apesar do aumento do CT, nosso estudo não encontrou correlação com as variáveis antropométricas. Dersham et al. (2017) também não evidenciaram correlação entre o CT e perda de peso após a DGYR. Entretanto, Carulli et al. (2016), evidenciaram essa correlação após a colocação do balão intragástrico.

O presente estudo apresentou correlação negativa entre o consumo de carboidratos (g) e o CT em mulheres com obesidade (pré-operatório). Os estudos presentes na literatura ainda não apresentam um consenso sobre a influência do consumo de certos alimentos, nutrientes e dos diferentes tipos de padrões alimentares no CT. Entretanto, em um estudo realizado por De Meyer et al. (2018), ao comparar o consumo de diferentes alimentos, obtidos pelo questionário de frequência alimentar, verificaram que o consumo de carboidratos, como: pão branco, massas, arroz e batatas não apresentou correlação significante ao CT. Assim como, Kasielski et al.

(2016) também não encontraram correlação entre o consumo de cereais e o CT, somente uma correlação inversa entre o consumo de carne vermelha/processada e o CT. Leung et al. (2018) sugerem que uma dieta rica em frutas, vegetais, cereais integrais, produtos lácteos e proteínas vegetais e baixa em carnes vermelhas e processadas, sódio e açúcares está relacionada ao maior CT e envelhecimento celular saudável, devido à ingestão de alimentos ricos em antioxidantes, os quais podem amenizar o atrito telomérico.

Formich et al. (2014) discutiram que o pós-operatório imediato é caracterizado por um estado catabólico, o que acelera a erosão de telômeros. Os mecanismos responsáveis pelo alongamento do CT não estão elucidados, entretanto as melhoras metabólicas e do estado inflamatório podem ser consideradas uma das principais vias de elongação (LAIMER et al., 2016).

Nesse sentido, o presente estudo evidenciou que as alterações nas concentrações de triglicérides decorrentes da DGYR (redução) contribuíram independente no aumento do CT. HARTE et al. (2012) também evidenciaram correlação inversa entre o CT e triglicérides. Em modelo animal, altos níveis lipídicos induziram a peroxidação lipídica (MOUSTAFA et al., 2012), contribuindo para o estresse oxidativo e a inflamação. As propriedades aterogênicas do colesterol e triglicérides elevados conferem lesões mecânicas, hemodinâmicas e/ou imunológicas e, como tal, podem causar um aumento do turnover celular e aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio em certas células (EPEL, 2009). A ligação entre triglicérides e CT pode ser secundária ao aumento do dano celular e ao turnover, que por sua vez amplifica o envelhecimento celular, levando as células à sua capacidade replicativa máxima - traduzindo-se em CT encurtado (HARTE et al., 2012).

Outro possível mecanismo associado ao aumento do CT após a cirurgia bariátrica está associado a atividade da enzima telomerase. O problema de replicação final dos cromossomos é resolvido pela ação da enzima telomerase, uma transcriptase reversa, responsável por adicionar novos pares de base nas extremidades dos cromossomos, contribuindo para a manutenção do seu comprimento (XIN; LIU; SONGYANG, 2008). Dersham et al. (2016) relatam que a mudança no padrão alimentar juntamente, com a realização de atividade física, que possivelmente resultam no aumento da atividade da telomerase, seria uma explicação para o aumento do CT após 3 a 5 anos da DGYR. Entretanto, neste estudo não foi realizada a avaliação da atividade da telomerase, pois como dito anteriormente, em

células sanguíneas, sua atividade geralmente apresenta-se baixa ou inexistente (BROCCOLI; YOUNG; LANGE, 1995; ENGELHARDT, 1997).

Contudo, além da enzima telomerase, proteínas do complexo *shelterin* são essenciais para a função dos telômeros. Geralmente, os telômeros só se tornam acessíveis à telomerase durante a fase S do ciclo celular (XIN; LIU; SONGYANG, 2008). Isto é conseguido por meio de múltiplos mecanismos, incluindo regulação da expressão e atividade da telomerase e o menor recrutamento das proteínas do *shelterin*, como a POT1 (WANG et al., 2007). Dessa maneira, complexo *shelterin* é crítico para a manutenção dos telômeros e o comprometimento desse complexo tem consequências deletérias para a célula. A deleção de cada componente do *shelterin*, com exceção do Rap1, correlacionou-se à letalidade embrionária em camundongos (SCHMUTZ; DE LANGE, 2016).

A POT1 associa-se especificamente à protuberância da fita simples 3' do telômero, impedindo que seja reconhecida pela maquinaria de reparo a danos ao DNA. Dados recentes sugerem que a POT1 inibiria inicialmente a translocação da enzima telomerase para os telômeros (TAKAI et al., 2016), sugerindo que sua maior expressão se correlaciona com menor CT. Entretanto, tal fato não foi evidenciado em nosso estudo, pois as mulheres eutróficas apresentaram maior expressão do *POT1* em relação às mulheres com obesidade. Ainda, não foi observado correlação entre expressão gênica e o CT.

O papel principal da ligação do complexo *shelterin* aos telômeros é desempenhado por TRF1 e TRF2, pois ambas são responsáveis por reconhecer as repetições teloméricas e recrutar os outros componentes. Ambas compartilham da mesma estrutura e divergem em seu domínio N-terminal (GALATI et al., 2015). A TRF1 demonstrou regular o comprimento dos telômeros, contribuindo para a proteção e manutenção do DNA telomérico (VAN STEENSEL; DE LANGE, 1997). Telômeros mais longos recrutam mais TRF1 e TRF2 e formam um estado fechado que inibe o acesso da telomerase. À medida que os telômeros encurtam gradualmente, eles mudam para um estado aberto devido à escassez de TRF1 e TRF2, os quais geram a desestruturação do *t loop*, expondo a *G tail* e, consequentemente, o recrutamento da telomerase para seu terminal (SMOGORZEWSKA et al., 2000).

Tais descobertas justificam o aumento da expressão do *TRF1* após a DGYR. Devido ao alongamento do CT, houve maior recrutamento de TRF1, o qual apresentou expressão significante maior em relação ao pré-operatório. Contraditoriamente ao

nosso achado, um estudo mostrou aumento da expressão de *TRF1, TRF2, POT1 e RAP1* em células sanguíneas de indivíduos com obesidade, considerando o TRF1 como um dos principais reguladores negativos do CT no contexto da obesidade, sendo que o aumento de sua expressão está associado a uma maior incidência de câncer (GRUN et al., 2018). No presente estudo, não houve alteração na expressão de *TRF2* entre os momentos de avaliação. Esse resultado sugere que a TRF2 deve ter um mecanismo de controle diferente da TRF1. Estudos adicionais serão necessários para determinar a real contribuição da proteína TRF2 na homeostasia telomérica ou no contexto de obesidade.

Conclusão

7. CONCLUSÃO

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

- A intervenção cirúrgica é eficaz na melhora da composição corporal e dos indicadores bioquímicos;
- O consumo alimentar de mulheres com obesidade não é condizente com os dados antropométricos, evidenciando um sub relato dessas pacientes;
- O comprimento dos telômeros de mulheres com obesidade é significante menor em relação às mulheres eutróficas;
- Há um aumento no comprimento dos telômeros após seis meses da DGYR;
- A expressão dos genes *POT1*, *TRF1* e *TRF2* é menor em mulheres com obesidade em relação às mulheres eutróficas;
- Após a DGYR, foi possível observar alterações na expressão de *TRF1;*
- Existe uma correlação entre as concentrações de triglicérides e o aumento do comprimento dos telômeros após a DGYR.

Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, A.; TOLLEFSBOL, T.O. Telomerase, telomerase inhibition, and cancer. **Journal of Anti-Aging Medicine**. v.6, n.4, p.315-22, 2004.

AN, R.; JI, M.; ZHANG, S. Global warming and obesity: a systematic review. Obesity Reviews, v. 19, n.2, p. 150-163, 2018.

AUBERT, G.; LANSDORP, P.M. Telomeres and aging. **Physiological Reviews**, v. 88, n. 2, p. 557-579, 2008.

AUTEXIER, C.; GREIDER, C.W. Telomerase and cancer: revisiting the telomere hypothesis. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 21, n.10, p. 387-391, 1996.

AVIV, A. Telomeres, sex, reactive oxygen species, and human cardiovascular aging. **Journal of Molecular Medicine**, v. 80, n. 11, p. 689-695, 2002.

BANDARIA, J. N., et al. Shelterin Protects Chromosome Ends by Compacting Telomeric Chromatin. **Cell**, v. 164, n. 4, p. 735-746, 2016.

BANDERA, E.V. Obesity, body fat distribution, and risk of breast cancer subtypes in African American women participating in the AMBER Consortium. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 150, n. 3, p. 655-666, 2015.

BANERJEE, A.; HEIDEN, E. Chapter 11 - Obesity and the Effects on the Respiratory System A2 - Weaver, Jolanta Urszula, in: **Practical Guide to Obesity Medicine**, p. 109-121, 2018.

BAUMAN, A.E.; SMITH, B.J. Healthy ageing: what role can physical activity play? **The Medical Journal of Australia**, v. 173, n. 2, p. 88-90, 2000.

BERISHA, S.Z. et al. Changes in Whole Blood Gene Expression in Obese Subjects with Type 2 Diabetes Following Bariatric Surgery: a Pilot Study. **Plos One**, v. 6, n. 3, e16729, 2011.

BLACKBURN, E.H., GALL, J.G. A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena. **Journal of Molecular Biology**, v. 120, n. 1, p. 33-53, 1978.

BLACKBURN, E.H. Switching and signaling at the telomere. **Cell**, v. 106, n.6, p. 661-667, 2001.

BLACKBURN, E.H. Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and the effects of altering their functions. **FEBS Letters**, v. 579, n. 4, p. 859-862, 2005.

BLACKBURN, E.H.; EPEL, E.S.; LIN, J. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. **Science**, v. 350, n. 6265, p. 1193-1198, 2015.

BLAZE, J.; ASOK, A.; ROTH, T. L. The long-term impact of adverse caregiving environments on epigenetic modifications and telomeres. **Frontiers**, 2015.

BROCCOLI, D.; YOUNG, J.W.; LANGE, T. Telomerase activity in normal and malignant hematopoietic cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n.20, p. 9082-9086, 1995.

CARULLI, L. et al. Telomere length elongation after weight loss intervention in obese adults. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 118, n. 2, p. 138-142, 2016.

CAWTHON, R. M. Telomere measurement by quantitative PCR. **Nucleic Acids Research**, v. 30, n.10, e. 47, 2002.

CAWTHON, R.M. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. **The Lancet**, v. 361, n. 9355, p. 393-395, 2003.

CHEN, S. et al. Short leukocyte telomere length is associated with obesity in American Indians: The Strong Heart Family study. **Aging**, v.6, n.5, p. 380-389, 2014.

CHENG, K.C. et al. 8-Hydroxyguanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G----T and A----C substitutions. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 1, p. 166-172, 1992.

CHIAPPETTA, S. et al. The Impact of Obesity and Metabolic Surgery on Chronic Inflammation. **Obesity Surgery**, v. 10, p. 3028-3040, 2018.

CHOMCZYNSKI, P.; SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Analytical biochemistry**, v. 162, n.1, p. 156-159, 1987.

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

CRISP, A.H. et al. Changes in Physical Activities and Body Composition after Roux-Y Gastric Bypass Surgery. **Obesity Surgery**, v. 28, n. 6, p. 1665-1671, 2018.

DAHSE, R.; FIEDLER, W.; ERNST, G. Telomeres and telomerase: biological and clinical importance. **Clinical Chemistry**, v.43, n.5, p. 708-714, 1997.

DAS, S.K. et al. Body composition assessment in extreme obesity and after massive weight loss induced by gastric bypass surgery. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 284, n. 6, e1080-8, 2003.

Diretrizes Brasileiras de Obesidade. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica, v. 3, p. 1-85, 2009.

DE FREITAS JUNIOR, W.R. et al. Assessment of the body composition and the loss of fat-free mass through bioelectric impedance analysis in patients who underwent open gastric bypass. **The Scientific World Journal**, 2014.

DE LANGE, T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. **Genes & Development**, v. 19, n.18, p.2100-2110, 2005.

DE LANGE, T. Shelterin-Mediated Telomere Protection. **Annual Review of Genetics**, 2018.

DE MEYER, T. et al. Leukocyte telomere length and diet in the apparently healthy, middle-aged Asklepios population. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 6540, 2018.

DERSHEM, R. et al. Changes in telomere length 3-5 years after gastric bypass surgery. **International Journal of Obesity**, v. 41, n. 11, p. 1718-1720, 2017.

ENGELHARDT, M. et al. Telomerase regulation, cell cycle, and telomere stability in primitive hematopoietic cells. **Blood Journal**, v. 90, n.1, p.182-93, 1997.

ENTRINGER, S. et al. Stress exposure in intrauterine life is associated with shorter telomere length in young adulthood. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 33, e. 513-518, 2011.

EPEL, E.S. et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n.49, p. 17312-17315, 2004.

EPEL, E.S. Psychological and metabolic stress: a recipe for accelerated cellular aging? **Hormones**, v. 8, n.1, p. 7-22, 2009.

FAROOQI, I.S.; O'RAHILLY, S. Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 89, n. 3, 980S-984S, 2009.

FINGERET, M.; MARQUES-VIDAL, P; VOLLENWEIDER, P. Incidence of type 2 diabetes, hypertension, and dyslipidemia in metabolically healthy obese and non-obese. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 28, n. 10, p. 1036-1044, 2018.

FONTAINE, K.R. et al. Years of life lost due to obesity. **Journal of the American Medical Association**, v. 289, n.2, p. 187-193, 2003.

FORMICH, C. et al. Weight loss associated with bariatric surgery does not restore short telomere length of severe obese patients after 1 year. **Obesity Surgery**, v. 24, n. 12, p. 2089-2093, 2014.

FRANCISCHI, R.P.P. et al. Obesidade: Atualização sobre sua etiologia, morbidade e tratamento. **Revista de Nutrição**, v. 13 n. 1, 2000.

GALATI, A. et al. TRF1 and TRF2 binding to telomeres is modulated by nucleosomal organization. **Nucleic Acids Research**, v. 43, n. 12, p. 5824-5837, 2015.

GARCIA-BECCARIA, M. et al. Therapeutic inhibition of TRF1 impairs the growth of p53-deficient K-RasG12V-induced lung cancer by induction of telomeric DNA damage. **EMBO Molecular Medicine**, v. 7, n. 7, p. 930-949, 2015.

GARCIA-MARIRRODRIGA, I. et al. Evolution of lipid profiles after bariatric surgery. **Obesity Surgery**, v. 22, n. 4, p. 609-616, 2012.

GARDNER, M. et al. Gender and telomere length: Systematic review and meta-analysis. **Experimental Gerontology**, v. 51, p. 15-27, 2014.

GODOY–MATOS, A. F.; OLIVEIRA, J. Diretrizes brasileiras de obesidade 2009/2010. ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. 3.ed. Itapevi, SP: AC Farmacêutica; 2010.

GOLZARAND, M.; TOOLABI, K.; DJAFARIAN, K. Changes in Body Composition, Dietary Intake, and Substrate Oxidation in Patients Underwent Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass and Laparoscopic Sleeve Gastrectomy: a Comparative Prospective Study. **Obesity Surgery**, p. 1-8, 2018.

GÓMEZ-HERNÁNDEZ, A. et al. Differential Role of Adipose Tissues in Obesity and Related Metabolic and Vascular Complications. **International Journal of Endocrinology**, 2016.

GOSS, F. et al. A comparison of skinfolds and leg-to-leg bioelectrical impedance for the assessment of body composition in children. **Dynamic Medicine**, v. 2, n.5, 2003.

GREIDER, C.W., BLACKBURN, E.H. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. **Cell**, v. 43, n. 2, pt 1, p. 405-413, 1985.

GREIDER, C.W.; BLACKBURN, E.H. Telomeres, telomerase and cancer. **Scientific American**, v. 274, n. 2, p.92-97, 1996.

GRIVENNIKOV, S.I.; GRETEN, F.R.; KARIN, M. Immunity, inflammation, and cancer. **Cell**, v. 140, n. 6, p. 883-899, 2010.

GRUN, L.K. et al. TRF1 as a major contributor for telomeres' shortening in the context of obesity. **Free Radical Biology & Medicine,** v. 129, p. 286-295, 2018.

HARTE, A.L. et al. Telomere length attrition, a marker of biological senescence, is inversely correlated with triglycerides and cholesterol in South Asian males with type 2 diabetes mellitus. **Experimental Diabetes Research**, 2012.

HENKEL, D.S. et al. Trends in the Prevalence of Severe Obesity and Bariatric Surgery Access: A State-Level Analysis from 2011 to 2014. **Journal of Laparoendoscopic & Advanced Surgical Techniques and Videoscopy**, v. 27, n. 7, p. 669-675, 2017.

HERRERA, F.E.; SFERCO, S.J. Human telomerase protein: Understanding how the catalytic activity is suppressed under single substitutions of some conserved residues. A computational study. **Proteins**, 2018.

HORWICH, T.B.; FONAROW, G.C.; CLARK, A.L. Obesity and the Obesity Paradox in Heart Failure. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 61, n. 2, p. 151-156, 2018.

HOUBEN, J.M. et al. Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 44, n. 3, p. 235-246, 2008.

IVASKA, K.K. et al. Changes in bone metabolism after bariatric surgery by gastric bypass or sleeve gastrectomy. **Bone**, v. 95, p. 47-54, 2017.

JAKICIC, J.M.; WING, R.R.; LANG, W. Bioelectrical impedance analysis to assess body composition in obese adult women: the effect of ethnicity. **International journal of obesity and related metabolic disorders**, v. 22, n.3, p. 243-249, 1998.

JIA, P.; HER, C.; CHAI, W. DNA excision repair at telomeres. **DNA Repair**, 2015.

KAC, G.; VELÁSQUEZ-MELÉNDEZ, G. A transição nutricional e a epidemiologia da obesidade na América Latina. **Cad Saude Publica**, v.19, n.1, p.4-5, 2003.

KARRA, E.; YOUSSEIF, A.; BATTERHAM, R.L. Mechanisms facilitating weight loss and resolution of type 2 diabetes following bariatric surgery. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 21, n. 6, p. 337-344, 2010.

KASAI, H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. **Mutation Research**, v. 387, n. 3, p. 147-163, 1997.

KASIELSKI, M. The relationship between peripheral blood mononuclear cells telomere length and diet - unexpected effect of red meat. **Nutrition Journal**, v. 15, n. 1, p. 68, 2016.

KAUR, J. A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. **Cardiology Research and Practice**, 2014.

KAWANISHI, S.; OIKAWA, S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress. **Annals of the New York Academy of Sciences**, p. 278-284, 2004.

KIM, S. et al. Obesity and weight gain in adulthood and telomere length. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, v. 18, n. 3, p. 816-820, 2009.

KOLOTKIN, R.L. et al. Cardiorespiratory fitness and health-related quality of life in bariatric surgery patients. **Obesity Surgery**, v. 21, n. 4, p. 457-464, 2011.

KULKARNI, K. et al. Obesity and osteoarthritis. **Maturitas**, v. 89, p. 22-28, 2016.

LAIMER, M. et al. Telomere length increase after weight loss induced by bariatric surgery: results from a 10 year prospective study. **International Journal of Obesity**, v. 40, n. 5, p. 773-778, 2016.

LAUFS, U. et al. Physical inactivity increases oxidative stress, endothelial dysfunction, and atherosclerosis. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 25, n. 4, p. 809-814, 2005.

LE ROUX, C.W.; HENEGHAN, H.M. Bariatric Surgery for Obesity. **Medical Clinics of North America**, v. 102, n. 1, p. 165-182, 2018.

LEUNG, C.W. Diet Quality Indices and Leukocyte Telomere Length Among Healthy US Adults: Data From the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2002. **American Journal of Epidemiology,** v. 187, n. 10, p. 2192-2201, 2018.

LIASKOS, C. et al. Roux-en-Y Gastric Bypass Is More Effective than Sleeve Gastrectomy in Improving Postprandial Glycaemia and Lipaemia in Non-diabetic Morbidly Obese Patients: a Short-term Follow-up Analysis. **Obesity Surgery**, 2018.

LIM, S. Ectopic fat assessment focusing on cardiometabolic and renal risk. **Endocrinology and Metabolism**, v. 29, n. 1, p.1-4, 2014.

LIN, J. et al. TRF1 and TRF2 use different mechanisms to find telomeric DNA but share a novel mechanism to search for protein partners at telomeres. **Nucleic Acids Research**, v. 42, n.4, p. 2493-2504, 2014.

LIU, M. et al. Telomere shortening in Alzheimer's disease patients. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v. 46, n.3, p. 260-265, 2016.

LUKASKI, H.C. Assessing regional muscle mass with segmental measurements of bioelectrical impedance in obese women during weight loss. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 904, p. 154-158, 2000.

LYSEN, L.K.; ISRAEL, D. A. Nutrição no Controle do Peso. In: MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J. L. Krause Alimentos, **Nutrição e Dietoterapia**. 13ª. ed: Elsevier, 2013. Cap. 22. p. 479-482.

MA, H. et al. Shortened telomere length is associated with increased risk of cancer: a meta-analysis. **Plos One**, v. 6, n. 6, e20466, 2011.

MAKAROV, V.L.; HIROSE, Y.; LANGMORE, J.P. Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. **Cell**, v. 88, n. 5, p. 657-666, 1997.

MARKKANEN, E. Not breathing is not an option: How to deal with oxidative DNA damage. **DNA Repair**, v. 59, p. 82-105, 2017.

MATARESE, G.; MOSCHOS, S.; MANTZOROS, C.S. Leptin in immunology. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 6, p.3137-3142, 2005.

MCCLINTOCK, B. The Behavior in Successive Nuclear Divisions of a Chromosome Broken at Meiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 25, n.8, p. 405-416, 1939.

MEEKER, A. K. et al. Telomere Length Assessment in Human Archival Tissues. **American Journal of Pathology**, v.160, n.4, p.1259-1268, 2002.

MELTON, G.B. et al. Suboptimal weight loss after gastric bypass surgery: correlation of demographics, comorbidities, and insurance status with outcomes. **Journal of Gastrointestinal Surgery**, v. 12, n. 2, p. 250-255, 2008.

MONDINI, L.; MONTEIRO, C.A. Relevância epidemiológica da desnutrição e da obesidade em distintas classes sociais: métodos de estudo e aplicação à população brasileira. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.1, n.1, p.28-39, 1998.

MOUSTAFA, T. et al. Alterations in lipid metabolism mediate inflammation, fibrosis, and proliferation in a mouse model of chronic cholestatic liver injury. **Gastroenterology**, v. 142, n. 1, p. 140-151, 2012.

MUEZZINLER, A.; ZAINEDDIN, A.K.; BRENNER, H. A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults, **Ageing Research Reviwes**, v. 12, n. 2, p. 509-519, 2013.

NANDAKUMAR, J.; CECH, T. R. DNA-induced dimerization of the singlestranded DNA binding telomeric protein Pot1 from Schizosaccharomyces pombe. **Nucleic Acids Res**. v. 40, p. 235–244, 2012.

NORDFJALL, K. et al. Telomere length is associated with obesity parameters but with a gender difference. **Obesity**, v. 16, n. 12, p. 2682-2689, 2008.

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

OUCHI, N. et al. 2011. Adipokines in inflammation and metabolic disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 2, p. 85-97, 2011.

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

PAUL, L. Diet, nutrition and telomere length. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 10, p. 895-901, 2011.

PICCOLI, A; NESCOLARDE, L.D.; ROSELL, J. Análisis convencional y vectorial de bioimpedancia em la práctica clínica. **Nefrologia**, v. 22, n. 3, p. 228-238, 2002.

PICOT, J. et al. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of bariatric (weight loss) surgery for obesity: a systematic review and economic evaluation. **Health Technology Assessment**, v. 13, n. 41, 1-190, 215-357, 2009.

PINHEL, M.A.S. et al. Weight loss and metabolic outcomes 12 months after Roux-en-Y gastric bypass in a population of Southeastern Brazil. **Nutricion Hospitalaria**, v. 32, n. 3, p. 1017-1021, 2015.

POLI, G. et al. Oxidative stress and cell signalling. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 9, p. 1163-1182, 2004.

PUZZIFERRI, N. et al. Long-term follow-up after bariatric surgery: a systematic review. **Journal of the American Medical Association**, v. 312, n. 9, p. 934-942, 2014.

RAJAVEL, M. et al. Dynamic peptides of human TPP1 fulfill diverse functions in telomere maintenance. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. 21, 2016.

RAVEENDRAN, R. et al. Obesity hypoventilation syndrome, sleep apnea, overlap syndrome: perioperative management to prevent complications. **Current Opinion in Anesthesiology**, v. 30, n. 1, p. 146-155, 2017.

RYAN, D.H.; KAHAN, S. Guideline Recommendations for Obesity **Management. Medical Clinics of North America**, v. 102, n. 1, p. 49-63, 2018.

SALA, P.C. et al. Relationship between gut hormones and glucose homeostasis after bariatric surgery. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 6, n. 1, 2014.

SANDERS, J.L.; NEWMAN, A.B. Telomere length in epidemiology: a biomarker of aging, age-related disease, both, or neither? **Epidemiologic Reviews**, v. 35, p. 112-131, 2013.

SANDOVAL, D. Bariatric surgeries: beyond restriction and malabsorption. **International Journal of Obesity**, v. 35, n. 3, 2011.

SAVINI, I. et al. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10497-10538, 2013.

SCHEINBERG, P. et al. Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. **Journal of the American Medical Association**, v. 304, n.12, p. 1358-1364, 2010.

SCHMATZ, R. et al. Evaluation of the biochemical, inflammatory and oxidative profile of obese patients given clinical treatment and bariatric surgery. **Clinica Chimica Acta**, v. 465, p. 72-79, 2017.

SCHMUTZ, I.; DE LANGE, T. Shelterin. **Current Biology**, v. 26, n. 10, p. 397-399, 2016.

SHAMMAR, M.A. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. **Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 14, n.1, p. 28-34, 2011.

SIOMEK, A. et al. Higher leukocyte 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine and lower plasma ascorbate in aging humans? **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 9, n. 1, p. 143-150, 2007.

SITTE, N.; SARETZKI, G.; VON ZGLINICKI, T. Accelerated telomere shortening in fibroblasts after extended periods of confluency. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 24, n. 6, p. 885-893, 1998.

SJOSTROM, L. Review of the key results from the Swedish Obese Subjects (SOS) trial - a prospective controlled intervention study of bariatric surgery. **Journal of Internal Medicine**, v. 273, n. 3, p. 219-234, 2013.

SMOGORZEWSKA, A. et al. Control of human telomere length by TRF1 and TRF2. **Molecular and Cellular Biology**, v. 20, n. 5, p. 1659-1668, 2000.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABÓLICA. Disponível em: https://www.sbcbm.org.br/numero-de-cirurgias-bariatricas-no-brasil-aumenta-467/ acesso em 10 de Outubro de 2018.

STARKWEATHER, A.R. et al. An Integrative Review of Factors Associated with Telomere Length and Implications for Biobehavioral Research, **Nursing Research**, v. 63, n.1, p. 36-50, 2014.

TAKAI, K.K. et al. In vivo stoichiometry of shelterin components. **Journal of Biological Chemistry,** v. 285, n.2, p.1457-1467, 2010.

TAKAI, K.K. et al. A POT1 mutation implicates defective telomere end fill-in and telomere truncations in Coats plus. **Genes & Development**, v. 30, n.7, p. 812-826, 2016.

TOLLEFSBOL, T.O.; ANDREWS, L.G. Mechanisms for telomerase gene control in aging cells and tumorigenesis. **Medical Hypotheses**, v. 56, n. 6, p. 630-637, 2001.

TOMITA, K. How long does telomerase extend telomeres? Regulation of telomerase release and telomere length homeostasis. **Current Genomics**, 2018.

TURNER, K.J. et al. Telomere length analysis and preterm infant health: the importance of assay design in the search for novel biomarkers. **Biomarkers in medicine**, v. 8, n. 4, p. 485-498, 2014.

TZANETAKOU, I.P. et al. Is obesity linked to aging?: adipose tissue and the role of telomeres. **Ageing Research Reviwes**, v. 11, n. 2, p. 220-229, 2012.

VALDES, A.M. et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. **The Lancet**, v. 366, n. 9486, p. 662-664, 2005.

VAN STEENSEL, B.; DE LANGE, T. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. **Nature**, v. 385, n. 6618, p. 740-743, 1997.

VILJANEN, A. et al. The effect of bariatric surgery on intraocular pressure. **Acta Ophthalmologica**, 2018.

VON ZGLINICKI, T. Oxidative stress shortens telomeres. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 27, n. 7, p. 339-344, 2002.

XIN, H.; LIU, D.; SONGYANG, Z. The telosome/shelterin complex and its functions. **Genome Biology**, v. 9, n. 9, 2008.

WANG, F. et al. The POT1-TPP1 telomere complex is a telomerase processivity factor. **Nature**, v. 445, n. 7127, p.506-510, 2007.

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

WELEDJI, E.P. Overview of gastric bypass surgery. **International Journal of Surgery Open**, v. 5, p. 11-19, 2016.

WERNER, C. et al. Physical exercise prevents cellular senescence in circulating leukocytes and in the vessel wall. **Circulation**, v. 120, n. 24, p. 2438-2447, 2009.

WHITLOCK, G. et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. **The Lancet**, v. 373, n. 9669, p. 1083-1096, 2009.

WOLKOWITZ, O.M. et al. Leukocyte telomere length in major depression: correlations with chronicity, inflammation and oxidative stress--preliminary findings. **Plos One**, v. 6, n. 3, e17837, 2011.

WONG, J.M.; COLLINS, K. Telomere maintenance and disease. **The Lancet**, v. 362, n. 9388, p. 989-988, 2003.

ZHAO, B. et al. Air pollution and telomere length: a systematic review of 12,058 subjects. **Cardiovascular Diagnosis and Therapy**, v. 8, n. 4, p. 480-492, 2018.

Apêndices

9. APÊNDICES

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

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaria de convida-la a participar do projeto intitulado "Comprimento dos telômeros e expressão de genes do complexo shelterin em mulheres com obesidade submetidas à cirurgia bariátrica e eutróficas" sob orientação da Profª. Drª. Carla Barbosa Nonino, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo e com participação da aluna de Mestrado, Caroline Rossi Welendorf. Essa pesquisa irá incluir pacientes com obesidade grau III com a finalidade de avaliar o comprimento dos telômeros antes e após 6 meses da realização da cirurgia bariátrica. Se você aceitar, sua participação consiste na coleta de sangue, obtenção de medidas corporais e de consumo alimentar, no pré e pós-operatório. Abaixo detalhamos cada procedimento:

1. Medidas de peso, altura e circunferência de 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. Análise da sua alimentação (todos os alimentos que você consome durante um dia) por meio do questionário chamado de Recordatório 24 horas. Serão três recordatórios no total, no primeiro encontro será realizado um e os outros serão realizados por telefone.
4. Coleta de sangue (uma colher de sopa). Será realizada por enfermeiro por meio de uma picada de agulha. Esse procedimento poderá causar dor pela picada da agulha ou formação de uma pequena mancha arroxeada no local.

Sua participação é voluntária, não terá custo algum e contribuirá para que novos métodos de prevenção e tratamento para obesidade sejam adotados. Você não receberá nenhum pagamento do pesquisador ou do hospital e tem o direito de desistir de participar do estudo a qualquer momento. Queremos deixar claro que será garantido o sigilo da sua identidade e a privacidade das informações coletadas.

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

Eu,_____,

RG: _____, concordo em participar desta pesquisa e declaro ter compreendido o termo de consentimento acima sendo minha participação inteiramente voluntária.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____.

_____ _____

Nome por extenso da participante Assinatura da participante

_____ _____

Nome por extenso do pesquisador Assinatura do pesquisad

Anexos

10. 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

FMRP-USP RIBEIRÃO PRETO

Ribeirão Preto, 12 de julho de 2017

Ofício nº 2075/2017
CEP/MGV

Prezadas Senhoras,

O trabalho intitulado **"INFLUÊNCIA DA OBESIDADE NO COMPRIMENTO DE TELÔMEROS E NA ATIVDADE DA TELOMERASE DE MULHERES COM OBESIDADE GRAVE PRÉ E PÓS CIRURGIA BARIÁTRICA" – versão 2, de 31/05/2017** foi analisado "AD REFERENDUM" pelo Comitê de Ética em Pesquisa, e enquadrado na categoria: **APROVADO,** bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – versão 2, de 31/05/2017,** de acordo com o Processo HCRP nº 14997/2016.

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

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/12 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

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

Ilustríssimas Senhoras
CAROLINE ROSSI WELENDORF
PROFª.DRª.CARLA BARBOSA NONINO(Orientadora)
Depto. de Clínica Médica

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP
Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
FWA-00002733; IRB-00002186 e Registro PB/CONEP nº 5440
(16) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br

ANEXO B – Questionário sobre hábitos de vida e presença de comorbidades

Questionário

Amostra:_____

1. **IDENTIFICAÇÃO**

Nome:_____

Prontuário:_____

Data de Nascimento e Idade: _____ Sexo_____

Naturalidade:_____

Endereço: _____

Telefones:_____

Bairro_____Cidade:_____

CEP:_____

2. **HISTÓRICO MÉDICO**

( ) Aneurisma ( ) Hipertensão ( ) Etilismo ( ) Dislipidemia (colesterol) ( ) Doença Renal

( ) Tagabismo ( ) Diabete mellito ( ) Transplante ( ) Doença hepática (cirrose)

( ) Fibromialgia ( ) Doenças Cardiovasculares ( ) Doenças Psiquiatricas

( ) Neurodegenerativa

Qual?_____

Há quanto tempo? _____

Obesidade Grau: _____