UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE NEUROCIÊNCIAS E COMPORTAMENTO

ALESSANDRA DONZELLI FABBRI

Associação de polimorfismos dos genes do receptor da grelina (*GHS-R*) e da enzima grelina O-aciltransferase (*MBOAT4*) e transtornos alimentares.

São Paulo
2016

ALESSANDRA DONZELLI FABBRI

Associação de polimorfismos dos genes do receptor da grelina (*GHS-R*) e da enzima grelina O-aciltransferase (*MBOAT4*) e transtornos alimentares.

(Versão corrigida)

Dissertação apresentada ao Programa de Neurociências e Comportamento do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Orientador: Prof. Dr. Táki Athanássios Cordás

São Paulo
2016

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

Catalogação na publicação
Biblioteca Dante Moreira Leite
Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo

Fabbri, Alessandra Donzelli.

Associação de polimorfismos dos genes do receptor da grelina (GHS-R) e da enzima grelina O-aciltransferase (MBOAT4) e transtornos alimentares / Alessandra Donzelli Fabbri; orientador Táki Athanássios Cordás. -- São Paulo, 2016.

90 f.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Psicologia. Área de Concentração: Neurociências e Comportamento) – Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo.

1. Distúrbios do ato de comer 2. Fatores de risco 3. Grelina 4. Genética I. Título.

RC552.E18

FABBRI, A.D. Associação de polimorfismos dos genes do receptor da grelina (*GHS-R*) e da enzima grelina O-aciltransferase (*MBOAT*) e transtornos alimentares. Dissertação apresentada ao Programa de Neurociências e Comportamento do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.:_____ Instituição:_____

Julgamento: _____ Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____ Instituição:_____

Julgamento: _____ Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____ Instituição:_____

Julgamento: _____ Assinatura:_____

À toda minha família pelo apoio, carinho e compreensão durante a elaboração deste trabalho, especialmente minha avó Maria Antonieta, minha mãe Vera Lúcia e meu pai Ronaldo por todo amor, dedicação e incentivo. E ainda à Hégira A. Pereira, segunda mãe, pelo infindável estímulo.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Táki Athanássios Cordás, pela oportunidade, confiança, incentivo, cuidado e atenção durante todo o processo de orientação, meu eterno agradecimento.

Ao Daniel Kerr, por toda ajuda, parceria, profissionalismo e dedicação durante toda realização deste trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Neurociências "Alzira Denise Hertzog Silva" (LIM-27) do Departamento e Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela colaboração no desenvolvimento e análise desta pesquisa, em especial à Leda Talib.

À Prof. Dra. Sophie Marie Michele Deram, por me encorajar a desvendar o belo caminho da genética.

À Paula Costa Texeira, Bianca Elisabeth Thurm, Andreza Carla Lopes e Ana Carolina Costa por toda amizade, inspiração e apoio que contribuíram para o meu crescimento científico, intelectual e pessoal.

À toda equipe do AMBULIM pela cooperação na realização deste trabalho, principalmente a equipe de nutrição pela dedicação e encorajamento. Meu agradecimento especial à Fernanda Pisciolaro.

À Maria Novaes Fonseca, querida e dedicada estagiária, que me ajudou durante a coleta e tabulação dos dados deste trabalho.

À Deise Rosseti e Elaine Carli, estimadas secretárias do AMBULIM, que me auxiliaram e acalmaram com palavras doces, quando necessário.

À Marle Alvarenga pelo incansável incentivo e inspiração.

À Norma e ao Tião, auxiliares de enfermagem do Instituto de Psiquiatria que participaram da coleta.

À Erika Hayashi e a Maria Umbelina, bibliotecárias da Paul Janssen" do Instituto de Psiquiatria do HCFMUSP por toda a colaboração do início ao fim desta dissertação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

À Fundação Faculdade de Medicina, pelo apoio financeiro fornecido para a realização das análises laboratoriais deste projeto.

À todos os sujeitos que aceitaram participar desta pesquisa, esse estudo jamais seria possível sem a colaboração de vocês.

“Eu sou aquela mulher a quem o tempo muito ensinou. Ensinou a amar a vida e não desistir da luta, recomeçar na derrota, renunciar as palavras e pensamentos negativos. Acreditar nos valores humanos e ser otimista.”

(Cora Coralina**)**

Esta dissertação está em vigor com as seguintes normas no momento desta publicação:

Referências: Adaptado da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas): NBR 6023

Universidade de São Paulo. Sistema Integrado de Bibliotecas da USP. Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: documento eletrônico e impresso Parte I (ABNT) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora. [et al..]. - 2. ed. rev. ampl. - São Paulo: Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, 2009.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Grelina em sua forma não acilada (desacil grelina) sendo transforma em sua forma acilada (acil grelina) pela enzima grelina O-aciltransferase (GOAT). Adaptado de Sato et al., 2012[52]. 21

Figura 2 - Gene da grelina humana (*GHRL*), também chamado de gene da pré-progrelina e seus produtos. As caixas mais escurar simbolizam os éxons, enquanto os números na parte inferior simbolizam os aminoácidos. Adptado de Liu et al. 2011[86]....29

Figura 3 – Gene do receptor de secretágogo de GH (*GHS-R*) e os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) mais pesquisados neste cromossomo, acompanhados de seus números de identificação. Fonte: Liu et al. 2011[86].....30

Figura 4 - Gene da enzima grelina O-aciltransferase (*MBOAT4*) e os polimorfismos nucleotídeo único (SNPs) mais pesquisados neste cromossomo, acompanhados de seus números de identificação. Fonte: Liu et al. 2011[86] 30

Figura 5– Extração de DNA de sangue periférico pelo método *Salting Out.* Adaptado de Roselino, 2008[115].....42

Figura 6 – Método de amplificação do DNA por PCR (reação em cadeia da polimerase). Adaptado de Alberts el al. 2002[117]. 44

Figura 7 - Gráficos gerados através das fluorescências das sondas do PCR tempo real de cada um dos possíveis genótipos do *GHS-R* (TT. TC, CC respectivamente) referente ao polimorfismo rs495225.....45

Figura 8 – Representação do cromosso 8 e seus respectivos genes. Note a proximidade dos genes *DCTN6* (em cinza escuro) e *MBOAT4* (em cinza claro). O sentido da seta indica a maneira que ocorre a leitura na transcrição. Fonte: NCBI [88] 53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Síntese dos estudos sobre grelina plasmática nos diferentes diagnósticos de TA, ordenados pelo mês e ano de publicação* (continua). 24

Quadro 2 - Estudos sobre polimorfismos no gene da grelina (*GHRL*), da grelina O-aciltransferase (*MBOAT4*) e do receptor de secretágogo de GH (*GHS-R*) nos TA 33

Quadro 3 - Variáveis do estudo e forma de análise 39

Quadro 4– Classificação do Índice de Massa Corporal (IMC) segundo a Organização Mundial da Saúde 39

Quadro 5 - *Assays* utilizados no PCR 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características demográficas, estado nutricional e comportamentos de risco em pacientes com TA e controles 48

Tabela 2- Frequência dos genótipos do SNP rs495225 (T/C) do gene *GHS-R* em pacientes com transtornos alimentares e controles 50

Tabela 3- Frequência dos genótipos do SNP rs10096097 (A/G) do gene *MBOAT4* em pacientes com transtornos alimentares e controles 50

LISTAS DE ABREVIATURAS

A	Adenina – base nitrogenada
AMBULIM	Programa de Transtornos Alimentares do Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
AN	Anorexia Nervosa
ANOVA	Análise de Variância
AN-P	Anorexia Nervosa Purgativa
AN-R	Anorexia Nervosa Restritiva
APA	Associação Americana de Psiquiatria
ARC	Núcleo Arqueado
BN	Bulimia Nervosa
BN-NP	Bulimia Nervosa Não Purgativa
BN-P	Bulimia Nervosa Purgativa
C	Citosina – base nitrogenada
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
CEPH-IPUSP	Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo
CM	Constitucionalmente Magras
DL	Desequilíbrio de Ligação
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DSM 5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, quinta versão
EAT 26	*Eating Attitude Test*
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
ELISA	*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*
G	Guanina – base nitrogenada
GH	Hormônio do Crescimento
GHRL	Gene da Grelina Humana
GHS-R	Receptor da Grelina

GHS-R	Gene do Receptor da Grelina
GOAT	Enzima Grelina O-aciltransferase
IMC	Índice de Massa Corporal
LIM	Laboratórios de Investigações Médicas
MBOAT4	Gene da Enzima Grelina O-aciltransferase (GOAT)
NPY/AgRP	Neuropeptídeo Y/Peptídeo Relacionado ao Agouti
OMS	Organização Mundial de Saúde
OTA	Outros Transtornos Alimentares
OTAE	Outro Transtorno Alimentar Especificado
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PN	Peso Normal
POMC/CART	Pró-opiomelanocortina/Transcrito Regulado pela Cocaína e Anfetamina
RIA	*Radioimmunoassay*
RNA	Ácido Ribonucléico
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	*Single Nucleotide Polymorphis*
T	Timina – base nitrogenada
TA	Transtornos Alimentares
TCA	Transtorno da Compulsão Alimentar
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

RESUMO

FABBRI, A.D. *Associação de polimorfismos dos genes do receptor da grelina (GHS-R) e da enzima grelina O-aciltransferase (MBOAT4) e transtornos alimentares(TA).* 2015. 91 f Dissertação (Mestrado) - Programa de Neurociências e Comportamento, Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

A grelina é um hormônio potente de ação central e periférica, que possui um importante papel na regulação do apetite, consumo alimentar e balanço energético. Fatores genéticos têm sido estudados para explicar as alterações do comportamento alimentar nestes pacientes e os polimorfismos do gene da grelina humana (*GHRL*) têm sido investigados como importantes fatores de risco para estas doenças, mas os achados ainda são inconclusivos. O presente trabalho objetivou avaliar os polimorfismos do sistema grelina relacionados aos genes *GHS-R* e *MBOAT4* e seu envolvimento na etiologia dos TA no Brasil. Foram coletadas amostras de sangue (10 ml) de 128 indivíduos (76 pacientes e 52 controles) para a análise genética (extração do DNA genômico e posterior genotipagem através do PCR tempo real), e realizadas outras avaliações: psiquiátrica, clínica e nutricional e revisão de prontuário. Não foi encontrada associação entre a frequência dos genótipos do SNP rs495225 no gene *GHS-R* e dos genótipos do SNP rs10096097 no gene *MBOAT4* e os diagnósticos de AN, BN e TCA. Estes genes são fortes genes candidatos para a obesidade e outros distúrbios da alimentação em virtude de suas funções biológicas e localizações, no entanto, outros estudos são necessários para esclarecer se suas variantes podem interferir na regulação do apetite e/ou possam ser um fator de risco para o desenvolvimento dos TA. Não há registro, até o momento; desta investigação ter sido realizada anteriormente na população brasileira.

Palavras chave: distúrbios do ato de comer, fator de risco, grelina, genética.

ABSTRACT

FABBRI, A.D. *Association of polymorphisms of genes of the ghrelin receptor (GHS -R) and enzyme ghrelin O- acyltransferase (MBOAT4) and eating disorders(ED).* 2015. 91 f. Master´s dissertation – Neuroscience and Comportament Program – Institute of Psychology. University of São Paulo, São Paulo, 2016.

Ghrelin is a potent hormone, and has central and peripheral action that has an important role in the regulation of appetite, food intake and energy balance. Genetic factors have been studying to explain the changes in feeding behavior in these patients and polymorphisms of the gene of human ghrelin (*GHRL*) are investigated as important risk factors for these diseases, but the findings are still inconclusive. This study aimed to evaluate the polymorphisms of ghrelin system related to *GHS-R* and *MBOAT4* genes and their involvement in the etiology of eating disorders in Brazil. Blood samples were collected (10 ml) of 128 subjects (76 patients and 52 controls) for genetic analysis (extraction of genomic and subsequent DNA genotyping by real-time PCR), and evaluations: psychiatric, clinical and nutritional and review record. No association was found between the frequency of SNP rs495225 genotype in the GHS-R gene and SNP rs10096097 genotypes in MBOAT4 gene and AN, BN and TCA diagnostics. These genes are strong candidate genes for obesity and other eating disorders because of its biological functions and locations, however, further studies are needed to clarify whether its variants may interfere with the regulation of appetite and / or may be a risk factor for the development of ED. There is no record, to date; this investigation was done previously in Brazilian population.

Keywords: eating disorders, risk factor, ghrelin, genetics.

SUMÁRIO

Lista de figuras 9

Lista de quadros.....10

Lista de tabelas 11

Listas de abreviaturas 12

Resumo 14

Abstract.....15

1 Introdução.....17

1.1 Estudos com genética molecular nos TA 18

1.2 Sistema grelina 19

1.3 Grelina nos TA 21

1.4 Grelina e os genes.....29

1.5 SNPs nos genes do sistema grelina e os TA.....31

1.6 Justificativa.....34

1.7 Hipóteses 34

1.7.1 Hipóteses para o polimorfismo do gene *GHS-R* rs495225:.....35

1.7.2 Hipóteses para o polimorfismo do gene *MBOAT4* rs10096097:.....35

2 Objetivos.....36

2.1 Objetivo geral 36

2.2 Objetivos específicos.....36

3 Casuística e métodos 37

3.1 Desenho 37

3.2 Local 37

3.3 Amostra 37

3.3 Coleta de dados.....38

3.4 Variáveis.....39

3.5 Instrumentos 40

3.5 Análise estatística 46

3.6 Aspectos éticos 46

4 Resultados.....48

4.1 Caracterização da amostra 48

4.2 associação do SNP rs495225 do gene *GHS-R* com os TAs 49

4.3 Associação do SNP rs10096097 do gene *MBOAT4* com os TAs.....50

5 Discussão 51

6 Conclusão 56

Referências 57

Apêndices 69

Apêndice A – Artigo de revisão bibliográfica publicado na revista *Archives of Clinical Psychiatry* em sua 42ª edição 2º volume. 69

Apêndice B – Questionário próprio utilizado na pesquisa 80

Apêndice C – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).....81

Anexos 86

Anexo A – Questionário Eating Attitude Test, versão com 26 questões (EAT-26)....86

Anexo B - Regulamento do biorrepositório descrito no projeto "Avaliação de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares" 87

Anexo C – Aprovação do projeto "polimorfismos dos genes do receptor da grelina (GHS-R) e da enzima grelina o-aciltransferase (GOAT) em pacientes com transtornos alimentares" pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (CEPH-IPUSP). 89

Anexo D - Aprovação do projeto "análise de polimorfismos de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares" pela comissão de ética para análise de projetos de pesquisa do HC-FMUSP (CAPPesq)..90

1 INTRODUÇÃO

Os transtornos alimentares (TA) são quadros psiquiátricos caracterizados por graves alterações no comportamento alimentar[1-3]. A anorexia nervosa (AN), a bulimia nervosa (BN) e o transtorno da compulsão alimentar (TCA) são TA conhecidos por sua elevada morbidade e mortalidade que podem levar a importantes complicações biológicas, psicológicas e sociais[4-7]. A AN é caracterizada pelo medo intenso do ganho de peso, grave restrição alimentar, baixo peso corporal e uma perturbação da imagem corporal. A BN é caracterizada por episódios de compulsão alimentar (consumo descontrolado de uma grande quantidade de comida, em um curto período de tempo, com a sensação de perda de controle), seguidos por comportamentos compensatórios inadequados que visam evitar o ganho de peso (como vômitos autoinduzidos, uso abusivo de laxantes, diuréticos e atividade física excessiva), estes episódios devem acontecer pelo menos uma vez por semana durante três meses. Por fim, o TCA é caracterizado por episódios de compulsão alimentar conforme o descrito anteriormente, com a mesma regularidade citada na BN, mas sem a utilização de métodos compensatórios inadequados[2,6].

A etiologia dos TA é complexa e, apesar de amplamente estudada, continua deficientemente entendida. Acredita-se que ela seja multifatorial, não havendo uma causa específica responsável pelo surgimento, início e manutenção do quadro e sim uma interação complexa de vários fatores: biológicos, genéticos, psicológicos, socioculturais e familiares[8-10].

A prevalência dos TA varia de 0,4% a 1,6%, sendo a maior frequência encontrada em mulheres jovens (entre 18 e 32 anos)[2,4]. A incidência da AN vem aumentando principalmente entre as meninas de 15 a 19 anos[11]. Os TA estão entre as 10 principais causas de incapacidade[12] e a AN tem a maior taxa de mortalidade entre todos os transtornos mentais[13].

No Brasil, ainda é escasso o número de trabalhos epidemiológicos envolvendo os TA[14], e os estudos existentes possuem metodologia e amostragem diversas. Ainda assim, os dados encontrados são preocupantes: Nunes et al. avaliaram 513 mulheres jovens entre 12 e 21 anos em Porto Alegre -RS e observaram que 8,5% destas usavam laxantes, 1,4% provocavam vômitos e 5,1% utilizavam anorexígenos[15]. Alvarenga et al., avaliaram estudantes universitárias em todas as regiões do país e encontraram uma frequência de 26,1% de comportamento de risco para TA[16]. Do Vale et al. avaliaram 652 estudantes de

colégios público e privado em Fortaleza e observaram que 25,1% destas apresentavam um padrão alimentar não usual e utilizavam prática danosas para o controle de peso. Prisco et al. estimaram comportamentos sugestivos de BN e TCA em 1273 trabalhadores residentes em Feira de Santana na Bahia e encontraram uma prevalência de 4,3% para TCA e 1,0% para BN[17].

Fator de risco é uma característica (por exemplo, alelo), um evento (por exemplo, sofrer bullying), ou uma experiência (por exemplo, crescer em uma cultura que valoriza a magreza extrema) que precede o início do desfecho de interesse (por exemplo, um transtorno alimentar) e que, "se estiver presente, está associado com um aumento na probabilidade (risco) deste desfecho específico sobre a taxa base do desfecho na população geral (não exposto)"[18].

Durante muito tempo, os estudos sobre os fatores de risco dos TA consideraram quase que exclusivamente os fatores ambientais, tais como: fatores socioculturais, eventos estressantes, abuso sexual, fatores perinatais, características psicológicas e de comportamento como o perfeccionismo, a afetividade negativa, a prática de dietas, a internalização do ideal de magreza e a pressão da mídia[18,19].

Atualmente, os estudos sobre a genética sugerem uma forte influência nestas desordens e os fatores genéticos têm sido amplamente avaliados por diferentes grupos de pesquisa. Bulik et al. publicaram uma extensa revisão sobre o assunto, os autores concluem que, seguramente, há uma contribuição genética na BN, com valores entre 31% a 83%, tanto em amostras populacionais como em amostras clínicas[20,21]. Os autores de outra recente revisão calcularam a contribuição genética na AN, BN e TCA, observaram que esse índice pode variar de 22% a 76% na AN, de 52% a 62% na BN e 57% no TCA[22]. Entretanto, ainda não é possível estimar o real peso de aspectos genéticos na etiologia da doença, e pouco se sabe sobre o mecanismo molecular destes quadros[23].

1.1 Estudos com genética molecular nos TA

Os estudos com genética molecular têm como objetivo identificar as regiões cromossômicas e os genes candidatos envolvidos na patogênese das doenças humanas, utilizando dois métodos diferentes: estudos de ligação e estudos de associação[24]. A escolha sobre qual método utilizar baseia-se no tipo de efeito genético que irá influenciar a doença em estudo. No primeiro caso, é observada alta recorrência familiar e os genes maiores irão determinar o fenótipo, então preferencialmente, são utilizados os estudos de ligação. No segundo caso, não observamos grande recorrência familiar da doença e a

maior parte dos casos é isolada, ou seja, indivíduos doentes e não aparentados. Neste caso, é dada a preferência aos estudos de associação, no qual a frequência dos alelos nos indivíduos afetados (casos) é comparada com a frequência nos controles (indivíduos sem a doença)[25]. O estudo de associação indica a presença de um *locus* (localização específica de um gene, sequência de DNA - do inglês, *deoxyribonucleic acid*, ou posição em um cromossomo) de susceptibilidade que aumenta a chance do indivíduo apresentar a doença, mas não garante a sua expressão. Esse método é o mais adequado para investigação de doenças multifatoriais, como os TA[26]. Os marcadores genéticos (marcadores que identificam um local ou região de um cromossomo) mais utilizados nos estudos de associação são os SNPs (*single nucleotide polymorphis*), ou seja, polimorfismos de nucleotídeo único[25,27].

A escolha de genes candidatos é uma abordagem realizada para conduzir estudos de associação genética. Eles irão investigar a associação entre a variação genética, com genes pré-escolhidos (candidatos) e fenótipos ou estados patológicos de interesse. Os genes candidatos são frequentemente selecionados baseados em um conhecimento a priori do impacto biológico funcional do gene, na doença em questão. Esta abordagem geralmente usa o desenho do estudo caso-controle[28,29].

Alterações nas vias que regulam o apetite e a saciedade podem estar relacionadas com os TA, estudos observaram que estas alterações se mantêm mesmo após o tratamento[30]. Assim, os genes envolvidos na regulação de peso podem ser fator de risco para os TA, e podem ser considerados gene candidatos[31,32].

Alguns pesquisadores têm sugerido que os genes envolvidos na regulação do consumo alimentar e do peso corporal, podem estar relacionados com a etiologia dos TA[33-37]. Eles têm mostrado que as alterações nestas vias, relacionadas com o TA, continuam alteradas mesmo após o tratamento[30]. Assim, os genes envolvidos na regulação de peso podem ser fator de risco para os TA e, por tanto, podem ser considerados gene candidatos[31,32].

Um dos principais hormônios envolvidos na regulação do consumo alimentar é a grelina e apesar de existirem vários neuropeptídios que estimulam a ingestão alimentar, este hormônio é o peptídeo orexígeno melhor estabelecido até o momento[38].

1.2 Sistema grelina

O núcleo arqueado (ARC) do hipotálamo e o tronco cerebral são importantes regiões envolvidas na regulação do apetite, do peso corporal e do balanço energético[39].

A grelina é um hormônio que atua no sistema nervoso central (SNC) ativando os neurônios NPY/AgRP (neuropeptídeo Y/ peptídeo relacionado ao agouti) no ARC[40] através do receptor da grelina (GHS-R). Desta forma, promove a produção e secreção de outros neuropeptídios orexígenos que suprimem a atividade neuronal do POMC/CART (pró-opiomelanocortina/ transcrito regulado pela cocaína e anfetamina), enquanto estimula o consumo alimentar[41].

Este hormônio estimula o apetite[42], sinalizando o início da refeição[43]. Em humanos, sua concentração mantem-se alta nos períodos de jejum e nos que antecedem as refeições, caindo logo após o início do consumo alimentar[44,45].

Peptídeo formado por 28 aminoácidos, a grelina é sintetizada principalmente nas glândulas oxínticas do estômago[33]. É acilada no terceiro resíduo que é uma serina, a introdução do ácido graxo (n-octanoil)[46] é necessária para ultrapassar a barreira hematoencefálica, tornando-a apropriada para se ligar ao GHS-R[47]. Essa acetilação converte a desacil grelina (forma inativa) em acil grelina (forma ativa)[48] e é catalisada pela enzima grelina O-aciltransferase (GOAT)[46] (Figura 1).

Ela também está envolvida na estimulação da secreção do hormônio de crescimento (GH), através do GHS-R[49]. Existem dois subtipos de receptores, o GHS-R1a, que é ativo e o GHS-R1b, uma isoforma menor que aparentemente não tem atividade biológica[50]. Este receptor está presente em vários tecidos incluindo a hipófise anterior, o hipotálamo, e outras áreas do cérebro, como hipocampo e substância negra. Em virtude da sua localização, tem-se sugerido que o GHS-R possa modular ritmos biológicos, humor, memória, aprendizado e apetite[51].

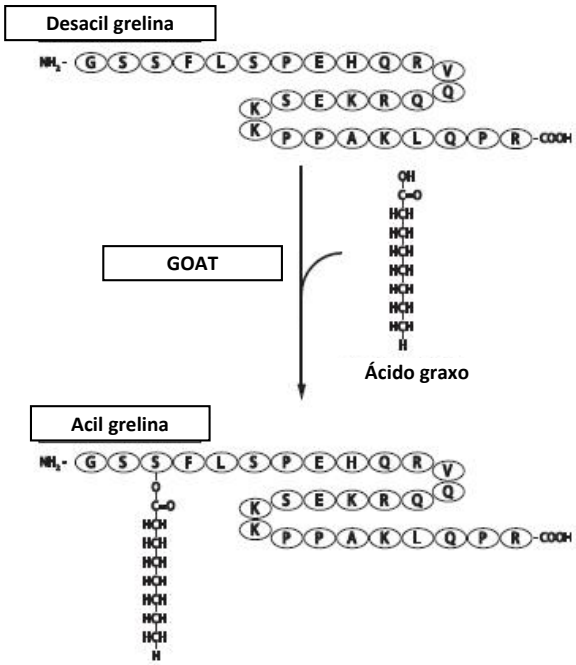


Figura 1 - Grelina em sua forma não acilada (desacil grelina) sendo transforma em sua forma acilada (acil grelina) pela enzima grelina O-aciltransferase (GOAT). Adaptado de Sato et al., 2012[52].

1.3 GRELINA NOS TA

O papel da grelina vem sendo bastante investigado na etiologia da obesidade e, ao contrário do que se espera, suas concentrações plasmáticas parecem ter correlação inversa com o índice de massa corporal (IMC)[45,53]. Estudos têm evidenciado que as concentrações plasmáticas de grelina são mais baixas em indivíduos obesos[53-56]. Um estudo mostrou que a queda da concentração de grelina foi menor após a refeição nos obesos[57], desta maneira, ela poderia manter a sensação de fome. Outros estudos realizados com crianças[58,59] e adultos obesos[60,61] também mostraram que as baixas concentrações de grelina permaneceram diminuídas após a redução/normalização do IMC destes indivíduos[58].

Estudos realizados em pacientes com AN encontraram altas concentrações de grelina no plasma[56,62-66] o que sugere que esta alteração possa ser uma resposta adaptativa à inanição prolongada[67].

Tolle el al[68] compararam concentrações de grelina plasmática em 3 grupos: mulheres hígidas constitucionalmente magras (CM) que possuíam um IMC similar às mulheres com AN; pacientes com AN e mulheres com peso normal (PN). Demonstrou-se que a concentração plasmática da grelina em jejum na AN era maior e se mantinha alta ao longo do dia (mensurada a cada 4 horas em um período de 24 horas), em comparação aos outros grupos. O estudo apresentou que estas concentrações se normalizaram após a

recuperação de peso, sugerindo que além do peso corporal, as concentrações também poderiam ser afetadas pelo estado nutricional[68]. Por outro lado, alguns estudos mostraram que as concentrações de grelina em pacientes com AN restritiva (AN-R) não foram totalmente normalizados, mesmo após tratamento[58,69-72] (Quadro 1).

Diferenças nas concentrações de grelina entre os subtipos da AN também foram relatadas. Tanaka et al., em 2003, encontraram concentrações de grelina mais altas na AN purgativa (AN-P) que na AN-R em 3 estudos[73-75]. Tanaka et al.[76] replicaram seus resultados em 2004, incluindo um terceiro subgrupo de AN que requeria hospitalização emergencial: as pacientes eram incapazes de comer e tiveram uma perda de peso extrema. Eles observaram que o grupo emergencial tinha maior concentração plasmática de grelina que AN-P, e que AN-P ainda tinha maior concentração que AN-R. Os três grupos tiveram as concentrações plasmáticas de grelina diminuídas após o tratamento, mas os pacientes com AN-P mantiveram valores plasmáticos superiores ao término da reabilitação[76].

Em 2005, Troisi et al.[77] encontraram concentrações mais altas de grelina em jejum na AN-R em comparação a AN-P. Porém os autores compararam os dados encontrados entre pacientes com BN e TCA, que provavelmente tinham um IMC maior, o que poderia justificar a diferença entre os resultados dos dois estudos.

Parece haver uma relação entre as concentrações de grelina e pacientes que apresentam um subtipo compulsivo/purgativo tanto para AN-P como para BN[73-75]. No entanto, esse achado ainda não é consensual, Monteleone et al.[64], em 2008, não encontraram diferença significativa nas concentrações de grelina plasmática em jejum entre os grupos de AN-R e AN-P. A justificativa para estes resultados conflitantes seria a maneira como o ensaio para mensurar a grelina é realizado, a preferência por utilizar o plasma ou o soro pode afetar as concentrações obtidas nos diferentes estudos. A equipe de Monteleone confirmou esta hipótese: em 2008, o resultado foi obtido dosando a grelina plasmática através do método ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*); já em 2010[78], para estudar pacientes com BN, usou-se o mesmo ensaio utilizado pela equipe de Tanaka em 2003[74], o método RIA (*radioimmunoassay*) e observou-se resultados similares, concentrações mais altas de grelina nestes pacientes em comparação aos controles (Quadro 1).

Tanaka et al.[79], em 2002 e Kojima et al.[80], em 2005, também observaram elevados níveis de grelina em jejum nos pacientes com BN. Além disso, Tanaka em 2002 observou que as concentrações de grelina foram correlacionadas negativamente com o IMC e percentual de gordura corporal, tanto na BN quanto no grupo controle[79]. Por outro lado,

Nakazato et al.[81] em 2004 não encontraram diferença nas concentrações de grelina plasmáticas em pacientes com BN. Uma possível justificativa para isto seria que Nakazato et al.[81] teriam medido as concentrações de grelina no soro aleatoriamente entre 11:00 am-12:00 pm (pós-prandialmente), ao contrário de Tanaka et al. em 2002[79] que as teria mensurado em jejum. Kojima et al. em 2005[80], mediram a grelina pré e pós-prandial, notou-se que a queda da grelina pós-prandial foi significativamente atenuada em mulheres com BN[81,82], gerando uma possível diminuição tardia da sensação de fome nestes pacientes (Quadro 1).

Pacientes com TCA tendem a apresentar uma diminuição da grelina em jejum[77,83,84] e um menor declínio pós-prandial comparados aos controles obesos[84]. Essa diminuição da concentração de grelina, não parece reduzir a propensão para o ganho de peso no TCA. Baixas concentrações de grelina também foram encontradas em obesos e parecem estar mais relacionadas com uma sub-regulação da liberação da grelina em resposta ao excesso de peso e o menor declínio pós-prandial possivelmente atuaria mantendo a fome[38] (Quadro 1).

Uma metanálise realizada em 2009 apresentou as concentrações plasmáticas em jejum e pós-prandialmente dos hormônios do apetite (*gut hormones*) em pacientes com AN, BN e seus subtipos, dos 8 estudos analisados, 7 encontraram concentrações elevadas de grelina plasmática nos diagnósticos de TA avaliados[85].

Os estudos sugerem que as alterações encontradas nas concentrações de grelina podem estar relacionadas com o comportamento de compulsão alimentar e de purgação[74]. Contudo, por enquanto, ainda não fica claro se a grelina participa fundamentalmente como um fator na etiologia dos TA[86].

Vale ressaltar que a gordura corporal ao invés do IMC, tem explicado melhor as alterações na concentração de grelina[64]. Alguns autores que tinham resultados contraditórios entre correlação do IMC e grelina, obtiveram resultados consistentes para gordura corporal[54,62,79,83,87].

Quadro 1- Síntese dos estudos sobre grelina plasmática nos diferentes diagnósticos de TA, ordenados pelo mês e ano de publicação* (continua).

Autores e Ano	Diagn.	Hipóteses/ Objetivos	Amostra	Idade anos (média ± DP)	IMC kg/m^2 (média ± DP)	Mens. grelina	Coleta da amostra de sangue	Principais análises estatísticas utilizadas	Resultados
Ariyasu et al. 2001[65]	AN e PG	Estimar a grelina plasmática em humanos, a ghrelin-LI em jejum e pós-prandialmente	33 PG	68,0 ± 4,0	23,3 ± 2,8	RIA	Jejum	Teste t de Student, regressão linear	A concentração de grelina foi maior na AN, encontrada correlação negativa entre as concentrações de grelina e o IMC em comparação aos CO femininos.
			31 AN	25,0 ± 1,0	DNM				
			61 CO (35 mulheres)	26,0 ± 1,0 (DNM mulheres)	20,7 ±0,3 (20,4 ± 0,4 mulheres)				
Otto et al. 2001[63]	AN	Investigar o envolvimento da grelina na patogênese dos TAs, analisar os níveis circulantes de grelina e suas possíveis correlações com os parâmetros clínicos antes e depois do ganho de peso	36 AN	25,0 ± 1,2	15,2 ± 0,2	RIA	Jejum	DNM	A concentração de grelina plasmática foi mais alta na AN, após melhora parcial do quadro, houve uma diminuição na grelina circulante (25%). Correlação negativa com o DeltaIMC
			24 CO	31,0 ± 1,4	22,9 ± 0,4				
Shiiya et al. 2002[54]	OB, AN e DM2	Investigação sobre a grelina no balanço metabólico, mensuração da grelina plasmática, respostas da grelina plasmática em CO e DM2 e investigação do perfil de 24 hs da grelina circulante	17 AN	22,2 ± 2,3	14,2 ± 0,5	RIA	Jejum e pós-prandial (0,3,5,10,15, 30,60 e 120 min)	ANOVA, *post hoc* de Fisher, regressão linear	A concentração de grelina plasmática foi alta na AN, e baixa nos OB, ela foi negativamente correlacionada com o IMC.
			11 OB	35,1 ± 3,7	30,4 ±1,2				
			42 DM2	58,5 ±1,6	DNM				
			28 CO	30,4 ± 4,1	22,7 ± 0,4				
Tanaka et al. 2002[79]	BN	Concentração de grelina plasmática em jejum estará aumentada na BN ou mostrará alguma especificidade com relação a patologia	15 BN	23,3 ± 5,3	20,0 ± 2,9	RIA	Jejum	Teste t de Student, regressão linear.	A concentração de grelina foi maior na BN. A grelina em jejum foi negativamente correlacionada com IMC e % gordura corporal.
			11 CO	24,0 ± 1,9	21,1 ± 1,2				
Tolle et al. 2003[68]	AN	Mensurar a grelina plasmática na AN, antes e depois da renutrição, em mulheres CM e CO	9 AN	17,2 ± 0,9	14,6 ± 0,4	RIA	Jejum e pós-prandial (horários: 800,1200,1600,2000, 2400 e 400 hs)	ANOVA, Teste t	Concentrações de grelina plasmática na AN se mantinham altas ao longo do dia e diminuíram após a renutrição. O grupo CM teve concentrações intermediárias de grelina.
			7 CM	23,3 ± 3,1	15,7 ± 0,4				
			10 CO	23,2 ± 1,1	21,5 ± 0,7				
Tanaka et al. 2003[73]	AN e BN	A presença e frequência de métodos purgativos poderiam influenciar as concentrações de grelina.	21 AN-R	21,8 ± 8,9	13,9 ± 1,9	RIA	Jejum	Regressão linear, ANOVA, *post-hoc* Fisher's.	A concentração de grelina plasmática foi mais elevada na AN-R, AN-P e BN-P, e foi significantemente mais elevada na AN-P. A grelina foi negativamente correlacionada com IMC e % gordura corporal.
			19 AN-P	24,6 ± 5,5	14,4 ± 2,1				
			18 BN-P	22,7 ± 5,0	20,0 ± 2,1				
			13 BN-NP	22,7 ± 6,5	21,2 ± 3,9				
			15 CO	22,1 ± 3,4	21,4 ± 11,0				

Quadro 1 – Síntese dos estudos sobre grelina plasmática nos diferentes diagnósticos de TA, ordenados pelo mês e ano de publicação* (continuação).

Autores e Ano	Diagn.	Hipóteses/ Objetivos	Amostra	Idade anos (média ± DP)	IMC kg/m^2 (média ± DP)	Mens. grelina	Coleta da amostra de sangue	Principais análises estatísticas utilizadas	Resultados
Nedvidkova et al. 2003[62]	AN	Estudar a resposta da grelina plasmática para o consumo alimentar, volume da refeição e valor nutricional.	5 AN	24,3 ± 2,6	15,2 ± 1,5	RIA	Jejum e pós-prandial (30,60,90,120 min)	Teste t unipareado, Mann-Whitney, correlação de Spearman, ANOVA, Teste de Dunnet	A concentração de grelina plasmática foi duas vezes maior na AN, e foi negativamente correlacionada com a % gordura corporal. Não houve mudança na concentração de grelina na AN após 2 hs da refeição.
			6 CO	22,9 ± 4,7	21,6 ± 1,2				
Tanaka et al. 2003[74]	AN	Mensurar as concentrações plasmáticas de grelina entre os subtipos da AN	19 AN-R	20,1 ± 4,9	13,6 ± 1,5	RIA	Jejum	Regressão linear, ANOVA, *post-hoc* de Scheffe	As concentrações de grelina plasmática foram mais elevados na AN-R e AN-P. A grelina foi ainda mais elevada na AN-P quando comparada com a AN-R. A grelina em jejum foi negativamente correlacionada com o IMC na AN.
			20 AN-P	21,9 ± 4,7	13,7 ± 1,9				
			11 CO	21,0 ± 1,9	21,4 ± 1,2				
Monteleone et al. 2003[87]	BN	Estudar as respostas da grelina e leptina as refeições na BN e CO	9 BN-P	24,2 ± 2,3	21,7 ± 3,4	RIA	Jejum e pós-prandial (0,45,60,90, 120 e 180 min)	ANOVA, ANOVA 2-vias com medidas repetidas e *post-hoc* de Tukey, correlação de Pearson	Não encontrou diferença entre os grupos na concentração de grelina em jejum. A grelina pós-prandial se manteve aumentada na BN (90, 120 e 180 min). A grelina em jejum foi negativamente correlacionada com a gordura corporal.
			12 CO	24,5 ± 2,6	21,5 ± 1,8				
Tanaka et al. 2003[75]	AN	As diferenças no comportamento alimentar poderiam influenciar a secreção de grelina e insulina na AN	11 AN-R	18,5 ± 1,4	13,3 ± 0,4	RIA	Jejum e pós-prandial (0,30,60,120 e 180 min)	ANOVA, *post-hoc de* Scheffe, Kruskal–Wallis, qui-quadrado	A concentração da grelina basal na AN- R e AN- P foi significativamente maior. Na AN-P foi encontrado um atraso na recuperação das concentrações de grelina pós-prandialmente (120 e 180 min)
			9 AN-P	20,9 ± 1,4	13,8 ± 0,5				
			10 CO	21,0 ± 0,6	21,4 ± 0,4				
Soriano-Guillen et al. 2004[58]	OBCR, AD e AN	Investigar o papel da grelina nos TAs, analisar as concentrações de grelina basal na OBCR, na AN e no efeito da perda de peso	26 OBCR	8,0 ± 1,3	SD 4,4 ± 1,8	RIA	Jejum	Teste t de Student, ANOVA com medidas repetidas, *post-hoc* de Scheffe, análise de correlação.	As concentrações de grelina estavam diminuídas na OBCR e não se normalizaram após redução de peso. Também foram encontradas concentrações aumentadas na AN.
			16 AN	17,0 ± 1,6	SD -2,2 ± 0,4				
			21 CR	6,3 ± 3,0	SD 0,1 ± 1,0				
			20 AD	17,2 ± 0,4	SD 0,3 ± 0,8				

Quadro 1 – Síntese dos estudos sobre grelina plasmática nos diferentes diagnósticos de TA, ordenados pelo mês e ano de publicação* (continuação)

Autores e Ano	Diagn.	Hipóteses/ Objetivos	Amostra	Idade anos (média ± DP)	IMC kg/m^2 (média ± DP)	Mens. grelina	Coleta da amostra de sangue	Principais análises estatísticas utilizadas	Resultados
Misra et al. 2004[66]	AN	As concentrações de grelina poderiam ser maiores na AN do que em adolescentes saudáveis	19 AN-R	16,1 ± 1,1	16,9 ± 1,6	RIA	Jejum	Teste t de Student, Wilcoxon, qui-quadrado	As concentrações de grelina foram maiores e a diminuição da grelina pós-prandial também foi alta na AN-R.
			20 CO	15,4 ± 1,8	21,8 ± 3,7				
Nakazato et al. 2004[81]	BN	Mensurar as concentrações séricas de grelina e comparar com o BNDF reportados em artigo anterior	18 BN (BN-P e BN- NP)	21,6 ± 4,0	20,4 ± 2,1	EIA	Pós-prandial (11:00-12:00 am)	Teste t de Student, Mann-Whitney, correlação de Pearson	Não houve correlação significante entre as concentrações de grelina e BNDF
			21 CO	21,4 ± 1,7	20,0 ± 1,5				
Tanaka et al. 2004[76]	AN	Mensurar a grelina e o GH na AN durante o tratamento para avaliar o efeito da reabilitação nutricional nas concentrações destas substâncias	7 AN-E	18,1 ± 1,2	11,1 ± 0,3	RIA	Jejum	Regressão linear, ANOVA, post hoc de Sheffés, Kruskal-Wallis, qui-quadrado	Antes do tratamento a concentração de grelina em jejum foi muito alta no grupo AN-E e alta na AN-P e AN-R. Se manteve alta na AN-R durante o tratamento e após o tratamento permaneceu alta no grupo AN-P. A concentração de grelina foi negativamente correlacionada com o IMC antes e durante o tratamento.
			14 AN-R	18,4 ± 1,3	13,1 ± 0,2				
			13 AN-P	25,0 ± 1,3	14,5 ± 0,3				
			9 CO	21,5 ± 0,9	21,5 ± 0,4				
Kojima et al. 2005[80]	BN	Investigar as alterações na grelina plasmática e PYY pós-prandiais após a refeição na BN e CO	10 BN-P	24,7 ± 1,5	20,0 ± 0,6	RIA	Jejum e pós-prandial (0,30,60,120 e 180 min)	Teste t de Student, ANOVA com medidas repetidas, correlação de Pearson	A concentração de grelina plasmática foi alta na BN e se manteve alta após a refeição
			12 CO	24,8 ± 0,8	20,2 ± 0,5				
Monteleone et al. 2005[83]	BN, TCA e OB	Investigar as mudanças da grelina plasmática nos TAs	13 TCA NO	26,9 ± 8,0	25,8 ± 2,5	RIA	Jejum	Kruskal-Wallis, Mann–Whitney, correlação de Spearman	A concentração de grelina plasmática foi reduzida no TCA e OB, e sem alteração na BN. A grelina foi negativamente correlacionada com peso corporal, IMC e gordura corporal, em toda a amostra.
			34 TCA OB	33,6 ± 9,1	39,8 ± 4,9				
			56 BN-P	23,4 ± 4,3	21,9 ± 3,8				
			28 OB	38,4 ± 14,1	38,1 ± 6,3				
			51 CO	22,6 ± 3,1	21,7 ± 2,3				
Monteleone et al. 2005[82]	BN	Investigar o PYY total e as respostas da grelina após uma refeição rica em gordura na BN e CO	9 BN-P	24,5 ± 2,6	21,5 ± 1,8	RIA	Jejum e pós-prandial (0,45,60,90, 120 e 180 min)	ANOVA, ANOVA 2-vias com medidas repetidas, *post hoc* de Tukey	Não houve diferença na concentração de grelina em jejum. A grelina pós-prandial se manteve mais alta na BN.
			10 CO	24,2 ± 3,9	21,7 ± 3,4				

Quadro 1 – Síntese dos estudos sobre grelina plasmática nos diferentes diagnósticos de TA, ordenados pelo mês e ano de publicação* (continuação).

Autores e Ano	Diagn.	Hipóteses/ Objetivos	Amostra	Idade anos (média ± DP)	IMC kg/m^2 (média ± DP)	Mens. grelina	Coleta da amostra de sangue	Principais análises estatísticas utilizadas	Resultados
Stock et al. 2005[56]	AN e OB	O PYY pode ser superior na AN e a resposta do PYY, grelina, GIP e saciedade para refeições mistas pode ser prejudicada na AN e obesidade.	10 AN	16,5 ± 0,4	16,3 ± 0,4	RIA	Jejum e pós-prandial (15,60,90,120, 180 e 240 min)	ANOVA, *post-hoc* de Bonferroni, teste de correlação de Wald, correlação de Pearson	A concentração de grelina foi encontrada mais baixa na OB, com relação a AN e CO. A resposta da grelina em cada grupo mostrou diferença significativa ao longo do tempo.
			10 OB	14,2 ± 0,3	34,4 ± 2,0				
			10 CO	14,8 ± 0,3	20,2 ± 0,4				
Geliebter et al. 2005[84]	TCA e TCAS	Pacientes com TCA possuem maiores concentrações de grelina pós-prandial, e uma taxa de esvaziamento gástrico mais lenta e menor de CCK pós-prandialmente	11 TCA	29,0 ± 8,4	36,6 ± 6,2	RIA	Jejum e pós-prandial (15,0,5,15,30 ,60,120 min)	GLM, *post-hoc* de Tukey	A concentração de grelina plasmática foi menor e teve uma queda menor após a refeição no TCA.
			14 TCAS	28,6 ± 6,7	35,9 ± 5,3				
			12 OB	33,1 ± 8,7	35,3 ± 5,5				
Otto et al. 2005[72]	AN	Investigar a supressão da grelina pós-prandial na AN durante o ganho de peso.	20 AN	25,6 ± 1,0	15,1 ± 0,3	RIA	Jejum e pós-prandial (20 e 60 min)	ANOVA com medidas repetidas, teste de Wilcoxon	Concentrações aumentadas de grelina em jejum na AN. Não houve diminuição significativa após o ganho de peso
			6 CO	28,8 ± 1,0	21,1 ± 0,7				
Troisi et al. 2005[77]	AN, BN e TCA	Investigar a relação entre concentração de grelina plasmática, cortisol, hormônios tireoidianos e padrão alimentar na AN, BN e TCA. Analisar os grupos pelo critério de compulsão e purgação	13 AN-R	26,6 ± 6,7	15,9 ± 2,3	RIA	Jejum	ANOVA, Teste t de Student,, *post-hoc* de Sheffé, Regressão de Stepwise	Altas concentrações plasmática de grelina na AN, BN e BED foram encontradas. Nos TA a concentração de grelina plasmática foi negativamente correlacionada com IMC. Positiva correlação entre as concentrações de grelina e comportamento alimentar desordenado.
			16 BN (AN-P e BN-P)	29,2 ± 11,4	26,0 ± 7,5				
			21 TCA (BN-NP e TCA)	38,0 ± 11,9	33,0 ± 7,8				
			23 CO	25,5 ± 3,2	21,24 ± 1,8				
Janas-Kozik et al. 2007[69]	AN	Investigar o envolvimento da AN na disfunção da grelina durante o tratamento	30 AN-R	18,0 ± 2,0	15,1 ± 1,4	RIA	Jejum	Teste t de Student e correlação de Spearman	A concentração de grelina foi alta na AN-R e não se estabilizou totalmente após o tratamento. Correlação negativa com grelina plasmática total e o IMC na AN-R após o tratamento.
			20 CO	18,5 ± 0,5	21,4 ± 2,1				
Nakahara et al. 2007[70]	AN	Mensurar grelina, PYY3-36, glicose e insulina após a refeição para avaliar o efeito do estado nutricional na AN durante a internação	14 AN-R	24,6 ± 6,0	12,4 ± 1,7	RIA	Jejum e pós-prandial (0,30,60,120 e 180 min)	ANOVA e *post-hoc de* Sheffé, ANOVA 2-vias com medidas repetidas	A grelina plasmática em jejum foi mais alta na AN, após o tratamento diminuiu um pouco, mas se manteve mais alta em comparação aos CO.
			12 CO	25,7 ± 6,7	22,3 ± 2,2				

Quadro 1 – Síntese dos estudos sobre grelina plasmática nos diferentes diagnósticos de TA, ordenados pelo mês e ano de publicação* (conclusão).

Autores e Ano	Diagn.	Hipóteses/ Objetivos	Amostra	Idade anos (média ± DP)	IMC kg/m^2 (média ± DP)	Mens. grelina	Coleta da amostra de sangue	Principais análises estatísticas utilizadas	Resultados
Monteleone et al. 2008[64]	AN e BN	Mensurar as concentrações circulantes de grelina/ obestatina e avaliar suas relações com as medidas antropométricas e clínicas na BN, AN e CO	21 AN (AN-R e AN-P)	23,4 ± 7,5	16,6 ± 1,6	ELISA	Jejum	Shapiro Wilk, ANOVA, correlação de Pearson	A concentração de grelina foi mais alta na AN, independente do subtipo. Não encontrou diferença para a BN. A concentração de grelina plasmática na AN teve correlação positiva com gordura corporal e IMC.
			21 BN	26,2 ± 7,1	21,4 ± 3,3				
			20 CO	23,6 ± 5,5	21,1 ± 2,2				
Monteleone et al. 2010[78]	BN	Investigar a resposta de grelina na realimentação "enganosa" na BN e CO	6 BN-P	DNM	DNM	RIA	Jejum e pós-prandial (0,15,30,45,90 e 120 min)	ANOVA, ANOVA 2-vias com medidas repetidas e *post hoc* de Tukey, correlação de Pearson	Na BN a grelina foi elevada pós-prandialmente. A resposta da grelina foi positivamente correlacionada com a frequência de compulsão e purgação semanais e duração da doença
			7 CO	DNM	DNM				
Terra et al. 2013[71]	AN	Estudar as concentrações das adipociquininas circulantes na AN e CO	28 AN-R	27,4 ± 1,4	16,8 ± 0,2	ELISA	Jejum	Teste t de Student, correlação de Pearson, regressão linear	Não houve diferença na concentração de grelina em jejum. Correlação negativa com a grelina plasmática e o IMC na AN-R após o tratamento.
			33 CO	32,6 ± 1,3	21,8 ± 0,3				

*Os dados mostrados foram retirados dos artigos de origem. Para facilitar a comparação, foram padronizados a exibição da idade e IMC e considerados apenas 1 casa após a virgula, sem arredondamento.
Legenda: AD: adolescentes, AN: anorexia nervosa, AN-E: anorexia emergencial, AN-P: anorexia nervosa tipo purgativa AN-R: anorexia nervosa tipo restritiva , ANOVA: análise de variância (1-via), BN: bulimia nervosa, BN-P: bulimia nervosa purgativa, BN-NP: bulimia nervosa não purgativa, BNDF: fator neurotrófico derivado do cérebro, CCK: colecistoquinina, CM: indivíduos constitucionalmente magros, CO: controles, CR: crianças, DM2: diabetes mellitus tipo 2, DNM: dados não mostrados , EIA: ensaio imunoenzimático, E do *inglês enzyme-linked immunosorbent assay*, GH: Hormônio do crescimento, Ghrelin-LI: do inglês *ghrelin-like immunoreactivity*, GIP: peptídeo inibidor gástrico**,** GLM**:** modelos lineares generalizados, , IMC: índice de massa corporal, NO: pacientes não obesos, OB: pacientes obesos sem transtornos alimentares, OBCR: crianças obesas sem transtornos alimentares, PG: pacientes gastrectomizados, PYY: peptídeo YY, RIA: do inglês *radioimmunoassay*, SD: curvas de IMC no padrão Espanhol, TA: transtornos alimentares, TCA: transtorno da compulsão alimentar, TCAS: transtorno da compulsão alimentar subclínico

1.4 GRELINA E OS GENES

O gene da grelina humana (*GHRL*, Gene ID: 51738)[88], que codifica a grelina, está localizado no braço curto do cromossomo 3 (3p25-26)[41] e possuí 518 pares de base(pb). Inicialmente imaginava-se que ele teria 4 éxons (parte codificante do gene), mas estudos posteriores identificaram um número adicional de éxons em humanos[89]. O precursor da grelina, a pré-progrelina, é formada no processo pós-transcricional do *GHRL*, é constituída por 117 aminoácidos, distribuídos em 23 aminoácidos do peptídeo sinal e 94 aminoácidos da pró-grelina, os quais compreendem os 28 aminoácidos da grelina madura e mais 66 aminoácidos[90], que incluem os 23 da obestatina (um hormônio com características antagônicas à grelina, que suprime o apetite e a atividade estomacal)[91]. Por tanto, a grelina e a obestatina são codificadas pelo mesmo gene precursor (Figura 2).

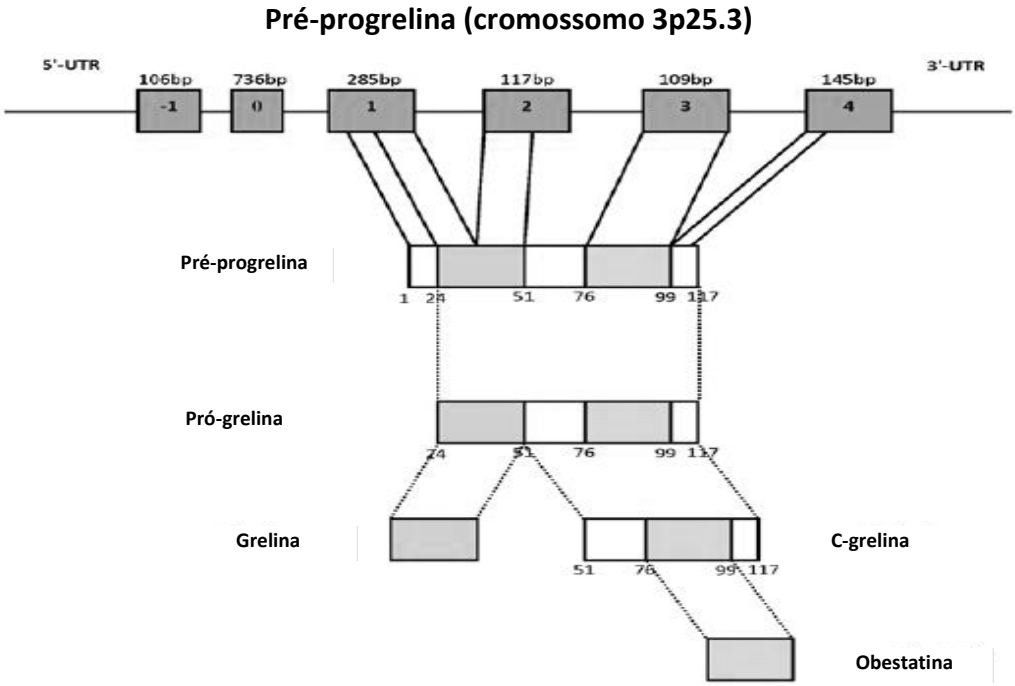


Figura 2 - Gene da grelina humana (*GHRL*), também chamado de gene da pré-progrelina e seus produtos. As caixas mais escurar simbolizam os éxons, enquanto os números na parte inferior simbolizam os aminoácidos. Adaptado de Liu et al. 2011[86]

Um estudo verificou não só o aumento das concentrações plasmáticas de grelina, mas também um aumento da relação obestatina/grelina em pacientes com AN e encontrou uma relação positiva entre obestatina/grelina e o peso corporal atual, assim como para o IMC. Os autores sugerem que estas concentrações mais elevadas de obestatina/grelina nos pacientes com AN, podem ser explicadas pela expressão aumentada do gene *GHRL*, o que resultaria em um aumento na produção destes hormônios e consequentemente um maior sinal orexigênico na AN do que em mulheres eutróficas[64].

O gene do receptor (*GHS-R*, Gene ID: 2693)[88] também foi localizado no cromossomo 3 (3q-26-31)[51] e codifica a proteína G acoplada a sete receptores transmembranosos[86]. Esse gene consiste em 2 éxons separados por 1 íntron (parte não codificante do gene) (Figura 3). O éxon 1 codifica as regiões transmenbranosas I-V e o éxon 2 codifica as regiões de VI e VII[92]. O gene *GHS-R* codifica dois tipos de RNA mensageiro (RNAm): GHS-R1a e o GHS-R1b[91,93].

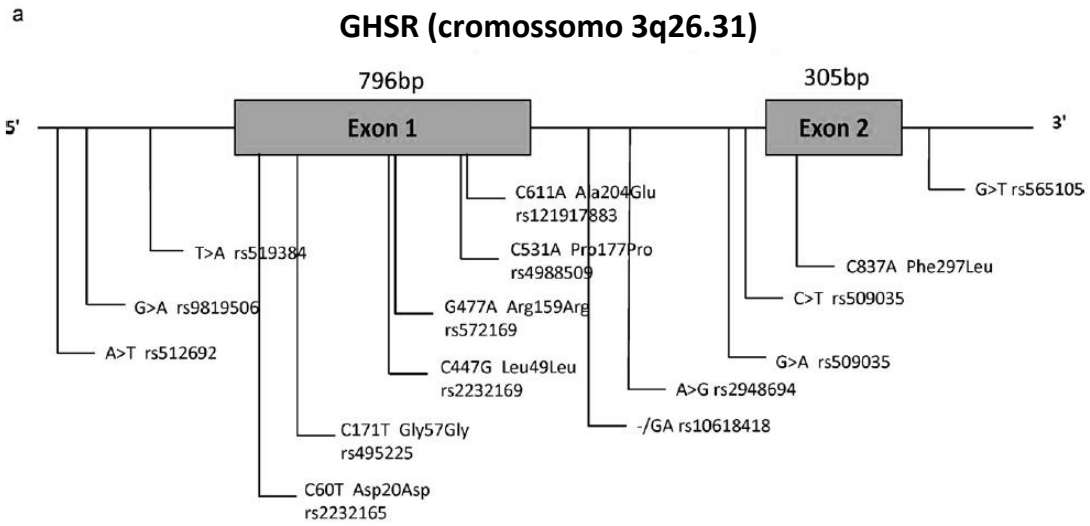


Figura 3 – Gene do receptor de secretágogo de GH (*GHS-R*) e os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) mais pesquisados neste cromossomo, acompanhados de seus números de identificação. Fonte: Liu et al. 2011[86]

O gene da GOAT (*MBOAT4*; Gene ID: 619373)[88] está localizado no cromossomo 8 (8p12) e é expresso principalmente no estômago, no pâncreas e em menor concentração nos ossos[94,95]. Este gene representa um novo candidato em pesquisas genéticas que investigam fenótipos complexos[86] (Figura 4). Entende-se por fenótipo as características apresentadas por um indivíduo, sejam elas morfológicas, fisiológicas ou comportamentais[96].

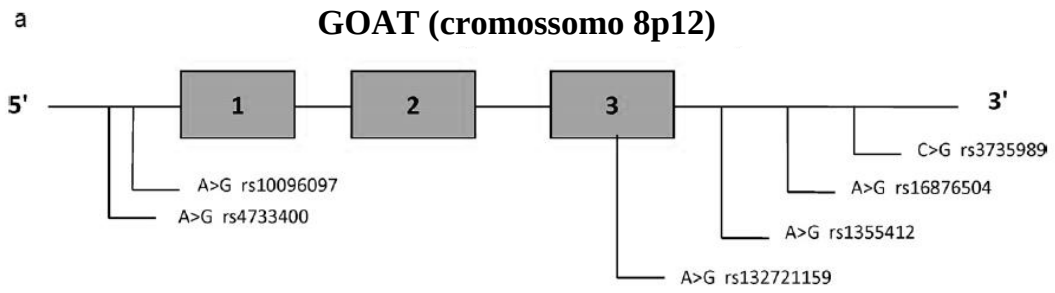


Figura 4 - Gene da enzima grelina O-aciltransferase (*MBOAT4*) e os polimorfismos nucleotídeo único (SNPs) mais pesquisados neste cromossomo, acompanhados de seus números de identificação. Fonte: Liu et al. 2011[86]

1.5 SNPs NOS GENES DO SISTEMA GRELINA E OS TA

Os SNPs são variações que ocorrem na sequência do DNA e que afetam somente um nucleotídeo: adenina (A), timina (T), citosina (C) ou guanina (G). Estas variações devem ocorrer em pelo menos 1% de uma determinada população para ser considerada um SNP. Se a frequência de uma variação for menor que 1%, a mesma será considerada uma mutação. Eles constituem 90% de todas as variações genômicas humanas e aparecem, em média, uma vez a cada 1.300 bases, ao longo do genoma humano. Dois terços dos SNPs correspondem a substituições de uma C por uma T[96].

Eles podem estar localizados em várias regiões do gene: promotora (região regulatória do gene onde se inicia a transcrição), éxons e íntrons. Os SNPs nas regiões promotoras e codificadoras têm maior probabilidade de modificar o funcionamento do gene e, consequentemente, a proteína formada[97]. A variante polimórfica poderia gerar uma proteína defeituosa ou inativa, o que influenciaria no comportamento alimentar e no equilíbrio energético[98]. Além disso, essas variações na sequência do DNA poderiam influenciar a resposta dos organismos a doenças, bactérias, vírus, produtos químicos, fármacos, entre outros.

Alguns trabalhos investigaram SNPs na grelina em indivíduos com TA. Cellini et al. em 2006[90] analisaram 3 SNPs no gene *GHRL* (rs4684677, rs696217, rs34911341)* e não encontraram associação com AN e BN, mas notaram que a transmissão preferencial do haplótipo (combinação de alelos em *loci* adjacentes, que fazem parte do mesmo cromossomo e são transmitidos juntos) do Glu90Leu72Arg51 e a redução do Gln90Met72Arg51 observada na BN, sugeria um possível envolvimento dessa combinação alélica na etiologia da doença. Monteleone et al. em 2006[99] e Kindler et al. em 2011[100] também investigaram os polimorfismos no gene *GHRL* na AN, BN e os últimos autores incluíram o TCA, não encontraram associação em nenhum SNP para nenhum diagnóstico (Quadro 2).

Por outro lado, Ando et al. em 2006[101] avaliaram 6 SNPs no gene *GHRL* na AN e BN e encontraram associação para rs2075356 e rs696217 na BN, para a população japonesa. Dardennes et al. em 2007[102] também encontraram positiva associação no SNP rs696217 na AN-P, investigando pacientes e trios familiares. Por tanto, quando observamos os polimorfismos no gene *GHRL* os estudos ainda não são consensuais (Quadro 2).

Em 2006 Miyasaka el al[103], avaliaram o SNP rs495225 no gene *GHS-R* na AN, BN e OTA (outros transtornos alimentares) e encontraram positiva associação para BN na população japonesa. Nessa variação troca-se C por T na posição 171 (171T/C), eles encontraram

---

*Nota – cada SNP possuí um número de identificação, acompanhado pela sigla “rs”.

associação no genótipo CC (homozigoze). Além disso, esse genótipo teve uma frequência menor na AN-R do que nos outros subgrupos (AN-P, BN Purgativa- BN-P e BN Não Purgativa – BN-NP), os autores propuseram uma fraca associação entre o genótipo 171CC com o fenótipo "compulsão alimentar"[103] (Quadro 2).

Sugere-se que as mutações com perda de função no *GHS-R* podem, potencialmente, acarretar em estado de desnutrição ou na redução do GH e da secreção de grelina levando a magreza, e que as mutações com ganho de função podem levar a obesidade[103]. Mutação com perda de função são mudanças na sequência dos nucleotídeos que resultam num produto gênico que tem menos ou nenhuma função, em comparação ao gene não mutado, e mutação com ganho de função mudam o produto gênico de forma que este adquira uma nova função[104]. No entanto, o polimorfismo 171T/C ocorre dentro do domínio transmembranar do receptor e não altera a sequência de aminoácidos, por isso é improvável que seja um polimorfismo funcional, sendo assim, um desequilíbrio de ligação (DL) com um polimorfismo funcional que pode estar envolvido no mecanismos subjacente é mais provável[103]. DL é definido com a diferença haplotípicas observadas e aquelas esperadas se os alelos segregassem de maneira independente[105].

Muller et al. em 2011[106], pesquisaram 6 SNPs no *MBOAT4* e encontraram associação no rs10096097 e AN. Essa mutação troca G por A, a associação foi encontrada no genótipo GG (modelo recessivo). Esse SNP está localizado na região promotora do gene, 24.981 pb acima do *start códon* (junção de 3 nucleotídeos ATG, onde se liga a RNA polimerase - RNAp para o início da transcrição). As mutações com ganho de função no *MBOAT4* podem tentar explicar as concentrações elevadas de acil grelina na AN. Hipergrelininemia persistente poderia implicar em um aumento da resistência à grelina e ao GH, comparável a resistência à insulina em indivíduos com hiperinsulinemia persistente. Por outro lado, as mutações com perda de função no *MBOAT4* podem levar a um comportamento alimentar prejudicado e, assim, um risco aumentado de AN[106] (Quadro 2).

Quadro 2 - Estudos sobre polimorfismos no gene da grelina (*GHRL*), da grelina O-aciltransferase (*MBOAT4*) e do receptor de secretágogo de GH (*GHS-R*) nos TA

Autores e Ano	Diagnósticos estudados	Hipóteses	Gene	Polimorfismo	N	Grupo Controle	Associações	Conclusão	País de Estudo
Cellini et al. 2006[90]	AN e BN	Analisar se polimorfismos do gene grelina que podem estar envolvidos na etiologia dos TA	*GHRL*	-rs4684677 -rs696217 -rs34911341	-366 AN -326 BN -529 AN e BN trios familiares	342 controles	Não foi encontrada nenhuma associação	Improvável que estes polimorfismos estejam relacionados com TA na população Europeia	Europa
Ando et al. 2006[101]	AN e BN	Grelina está envolvida na etiologia dos TA?	*GHRL*	-rs696217 -rs34911341 -rs4684677 -rs2075356 -rs35680 -3615 A>C	-131 AN-R -97 AN-P -108 BN	300 controles	Encontrada para rs2075356 e rs696217 na BN	Estes polimorfismo podem estar envolvidos na etiologia dos TA	Japão
Monteleone et al. 2006[99]	AN e BN	Variações funcionais no gene da grelina podem contribuir para vulnerabilidade genética, ou modular alguns aspectos do fenótipo dos TA	*GHRL*	-rs34911341 -rs696217	-114 BN -31 AN-R -29 AN-P	119 controles	Não foi encontrada nenhuma associação	Sugerem que estes polimorfismos da grelina não devem contribuir com a vulnerabilidade genética na AN e BN	Itália
Miyasaka et al. 2006[103]	AN, BN e OTA	Investigar um novo polimorfismo no GHS-R porque o polimorfismo no GHRL -Leu72Met não foi detectado previamente na população Japonesa	*GHS-R*	-rs495225	-96 AN -116 BN -16 OTAE	284 controles	Encontrada para BN	Este polimorfismo pode ser um fator de risco para BN.	Japão
Dardennes et al. 2007[102]	AN	Analisar se polimorfismos do gene grelina que podem estar envolvidos na etiologia dos TA	*GHRL*	-rs4684677 -rs696217	-114 AN-R e trios familiares -90 AN-P e trios familiares	Não tem	Encontrada para AN-P no rs696217	Análises genéticas simultâneas com determinantes biológicos podem ajudar a explicar o alto grau de hereditariedade e o padrão patofisiológico nos TA.	França
Muller et al. 2011[106]	AN	Verificar se as variações genéticas do GOAT estão envolvidas na etiologia da AN	*MBOAT4*	-rs1355412, -rs10096097, -rs16876504, -rs3735989, -rs13272159, -rs4733400	-543 AN	612 controles	Encontrada para AN no genótipo G/G para o rs10096097	A variação genética do GOAT pode estar relacionada com a etiologia da AN	Alemanha
Kindler et al. 2011[100]	AN, BN e TCA	Os fatores genéticos provavelmente podem contribuir para vulnerabilidade biológica dos TA	*GHRL*	-rs34911341 -rs696217 -rs4684677	-46 AN -30 BN -38 TCA	164 controles	Não foi encontrada nenhuma associação	Associações positivas anteriores com polimorfismos do gene da grelina não puderam ser replicados	Áustria

1.6 JUSTIFICATIVA

Identificar os fatores de risco ou causais para os TA é importante por pelo menos quatro motivos: 1º) identificação de mecanismos causais satisfaz a necessidade de entender porque certas pessoas desenvolvem o quadro e outras não; 2º) a nosologia idealmente deve ser baseada na etiologia, ainda que o esquema atual de classificação dos TA (como descrito no DSM 5[2]) seja baseado unicamente no agrupamento observado de sinais e sintomas, o estudo dos fatores de risco pode apresentar uma fonte inesgotável de informações com potencial valor para a revisão do atual sistema; 3º) o tratamento é melhor realizado quando conhecemos as causas do transtorno, sabemos que a eficácia dos tratamentos para os TA possuem uma qualidade muito variável; e 4º) determinar os grupos de alto risco para direcionar as intervenções, desenvolver programas de prevenção e informar as políticas públicas[18,107].

Os polimorfismos do gene da grelina humana (*GHRL*) têm sido investigados nos TA como importantes fatores de risco, mas os achados ainda são inconclusivos[108], os estudos mostram diferentes associações, com os diferentes diagnósticos de TA[90,99-102]. Entretanto, associações positivas foram encontradas entre SNPs dos genes do receptor de secretágogo de GH (*GHS-R*) e da grelina O-aciltransferase (*MBOAT4*) e os diagnósticos de BN e AN. Neste sentido, somente dois trabalhos encontraram essa associação o de Miyasaka et al.[103] e de Muller et al.[106], sendo necessários novos trabalhos para que haja maior clareza sobre os resultados obtidos. Até o presente momento, não existe nenhum estudo sobre polimorfismos nos genes *GHS-R* e *MBOAT4* e os TA, no Brasil.

Portanto, as variantes do *GHS-R* (rs495225) e do *MBOAT4* (rs10096097) podem contribuir para a vulnerabilidade genética, modulando alguns aspectos do fenótipo dos TA. Porém se tratando unicamente de dois estudos, mais trabalhos são necessários para confirmar essas associações.

1.7 HIPÓTESES

As hipóteses dessa dissertação foram construídas a partir do estudo de associação genética, e tem como base a comparação da frequência alélica ou genótipo entre casos e controles. As perguntas que norteiam a presente pesquisa são: “existe associação genética entre o polimorfismo do gene *GHS-R* (rs495225) e AN, BN, TCA?” e “existe associação genética entre o polimorfismo do gene *MBOAT4* (rs10096097) e AN, BN, TCA?”. Para o teste de hipóteses consideramos a hipótese nula (H0) e a hipótese alternativa (Ha) para cada variável categórica de diagnóstico do TA.

1.7.1 Hipóteses para o polimorfismo do gene *GHS-R* rs495225:

H0a. Não associação com AN

H1a. Associação com AN

H0b: Não associação com BN

H1b: Associação com BN

H0c: Não associação TCA

H1c: Associação com TCA

1.7.2 Hipóteses para o polimorfismo do gene *MBOAT4* rs10096097:

H0a. Não associação com AN

H1a. Associação com AN

H0b: Não associação com BN

H1b: Associação com BN

H0c: Não associação TCA

H1c: Associação com TCA

Parte da introdução desta dissertação, foi publicada em inglês, na revista *Archives of Clinical Psychiatry* em sua 42ª edição 2º volume, como artigo de revisão[108]. Esse artigo encontra-se em íntegra no apêndice (Apêndice A).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar se os polimorfismos rs495225 do gene *GHS-R* e rs10096097 do gene *MBOAT4* estão envolvidos na etiologia dos TA na população brasileira.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Comparar a frequência do polimorfismo rs495225 do gene *GHS-R* em pacientes com os diagnósticos de AN, BN, TCA e indivíduos controles;

b) Comparar a frequência do polimorfismo rs10096097 do gene *MBOAT4* em pacientes com os diagnósticos de AN, BN, TCA e indivíduos controles.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3.1 DESENHO

O presente estudo caracteriza-se como observacional caso-controle.

3.2 LOCAL

O estudo foi realizado no Programa de Transtornos Alimentares do Instituto de Psiquiatria, do Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (AMBULIM-IPq-HC-FMUSP) em parceria com o Laboratório de Neurociências "Alzira Denise Hertzog Silva" que faz parte da rede dos Laboratórios de Investigações Médicas (LIMs) do Hospital das Clinicas da Faculdade de Medicina da USP (LIM-27).

O AMBULIM foi criado em 1992, pelo Prof. Dr. Táki Athanássios Cordás, quando não havia no Brasil nenhum centro especializado no tratamento dos TA. Atualmente, este serviço é considerado o maior centro especializado em TA do Brasil e da América Latina, oferecendo tratamento para pacientes de qualquer ponto do país. Sua equipe é formada por psiquiatras, psicólogos, nutricionistas, educadores físicos, fisioterapeutas e entre outros profissionais especializados. O LIM-27 foi planejado e construído entre os anos de 1997 e 1999, com o esforço conjunto do Prof. Dr. Wagner Gattaz e seus colaboradores. O grupo desenvolve estudos nas áreas de biologia molecular, celular, genética e bioquímica em diferentes transtornos neuropsiquiátricos. Atualmente, o LIM-27 conta com uma equipe de cerca de 40 pessoas, incluindo médicos, biólogos, farmacêuticos, técnicos especializados, estudantes de graduação e pós-graduação, pós-doutorandos e pesquisadores seniores, conduzindo pesquisas nas mais diversas áreas da neuropsiquiatria.

3.3 AMOSTRA

Foram estudados 83 pacientes de ambos os sexos, diagnosticados com algum subtipo de TA (AN, BN e TCA), em algum momento da vida, que receberam tratamento em ambulatório ou enfermaria do AMBULIM e 55 indivíduos controles.

Os <u>critérios de inclusão</u> dos sujeitos na amostra foram:

- Diagnóstico de TA (AN, BN, TCA) em algum momento da vida. Este diagnóstico foi confirmado através de revisão de prontuário e seguiu os critérios atualizados da Associação Americana de Psiquiatria (APA) no manual diagnóstico e estatístico de transtornos mentais em sua quinta versão (DSM 5);

- Tratamento pregresso ou atual em ambulatório ou enfermaria do AMBULIM;

- Ambos os sexos, de 18 a 50 anos;

Os critérios de exclusão dos sujeitos na amostra foram:

- Idade superior a 50 anos;

- Ter diagnóstico de outro diagnóstico de TA diferente de AN, BN e TCA (por ex: OTAE);

- Quadros orgânicos que incluem alterações do comportamento alimentar;

Para obter uma amostra mais homogênea, excluímos das análises quatro pacientes que tinham o diagnóstico de OTAE (outro transtorno alimentar especificado). Segundo o DSM 5, considera-se OTAE a apresentação de sintomas característicos de um TA, que causam sofrimento clinicamente significativo ou prejuízo no funcionamento social, profissional ou em outras áreas importantes da vida do indivíduo, mas que não satisfazem todos os critérios para qualquer transtorno na classe diagnóstica de TAs[2]. Também excluímos dos controles um paciente que havia feito gastroplastia, por acreditar que cirurgia altera comportamento alimentar.

Os pacientes antigos foram contatados (por telefone, e-mail ou carta) e convidados a participar da pesquisa. Eles vieram ao IPq-HC-FMUSP em dias e horários pré-agendados e efetuaram a coleta. Já os pacientes novos, após serem triados e diagnosticados com algum subtipo de TA por um médico da equipe, foram convidados a participar da pesquisa. Como eles estavam em tratamento, a coleta foi realizada durante a vinda do paciente ao ambulatório para o tratamento.

Para obtenção das amostras de sangue dos indivíduos controles, participaram 55 indivíduos (44 mulheres e 11 homens), na mesma faixa etária, que trabalham ou estudam no IPq-HC-FMUSP. Foram excluídos parentes de pacientes em qualquer grau e indivíduos que apresentaram comportamento de risco para TA, segundo o EAT 26 (*Eating Attitude Test*)[109], com pontuação igual ou maior a 21.

Para garantir que estas pessoas não foram diagnosticados com TA, foi feita uma pergunta por entrevistador treinado: “Você já foi diagnosticado com TA em algum momento da sua vida?”, os indivíduos que responderam afirmativamente a esta pergunta não participaram da coleta. Os indivíduos controles selecionados foram pareados por sexo, etnia e idade.

3.3 COLETA DE DADOS

Foi realizada uma pesquisa de base clínica, cujo os dados foram coletados no período de janeiro de 2014 à setembro de 2015. Os instrumentos foram aplicados pela

pesquisadora executante ou por outro membro da equipe de pesquisa. A utilização destes instrumentos, a revisão dos prontuários e a análise genética possibilitaram a coleta e análise das variáveis da pesquisa.

3.4 VARIÁVEIS

No Quadro 3 estão apresentadas as variáveis do estudo e sua forma de análise, que são descritas detalhadamente a seguir:

Quadro 3 - Variáveis do estudo e forma de análise

Conjunto de variáveis	Variável	Forma de análise
Sócio demográficas	Idade (anos)	Dados auto referidos
	Sexo (masculino ou feminino)	
	Etnia	
Estado nutricional	Peso (quilos)	Dados mensurados nos casos e auto referidos nos controles
	Estatura (metros)	
	IMC (kg/m2)	
	Classificação do IMC segundo OMS	
Comportamento de risco para transtornos alimentares	Pontuação maior ou igual a 21	Eating Attitude Test (EAT-26)
Diagnóstico de transtorno alimentar	AN, BN ou TCA classificação segundo DSM 5	Revisão do prontuário feito por médico psiquiatra
Polimorfismos genéticos	SNP rs495225 do gene *GHS-R*	Análise laboratorial
	SNP rs10096097 do gene *MBOAT4*	

a) Sócio demográficas: idade (anos), sexo (masculino ou feminino) e etnia (branco, pardo, negro, amarelo ou indígena). Coletadas por questionário próprio desenvolvido especialmente para esta pesquisa (Apêndice B).

b) Estado nutricional: peso (quilos) e estatura (metros), que foram utilizados para calcular o IMC e o diagnóstico do estado nutricional foi classificado segundo recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2006) em baixo peso, eutrofia, sobrepeso e obesidade conforme o Quadro 4.

Quadro 4– Classificação do Índice de Massa Corporal (IMC) segundo a Organização Mundial da Saúde

IMC (Kg/m^2)	Classificação
Abaixo de 18,5	Baixo peso
18,5 – 24,9	Eutrofia
25 – 29,9	Sobrepeso
30 – 34,9	Obesidade grau I
35 – 39,9	Obesidade grau II
Acima de 40	Obesidade grau III

Fonte: WHO, 2006[110]

c) Comportamentos de risco para TA: avaliados segundo os escores do questionário EAT 26;

d) Diagnóstico de TA: AN, BN ou TCA: feitos de acordo com os critérios da APA seguindo o DSM 5, após revisão do prontuário realizada por médico psiquiatra sênior na área de TA;

e) Polimorfismo genético: feitos após análise laboratorial do DNA extraído dos leucócitos contidos no sangue periférico dos indivíduos.

3.5 INSTRUMENTOS

a) Avaliação da prevalência de comportamentos de risco para transtornos alimentares – EAT 26

Para realizar uma melhor seleção dos indivíduos controles e evitar que estes indivíduos possuam TA, aplicamos um instrumento que avaliou os comportamentos de risco para TA, o EAT 26[111]. Este questionário, possuí 26 questões, sendo que a escala foi originalmente elaborada com 40 questões e depois diminuída para 26 questões, sem prejuízo das suas propriedades psicométricas[112]. Ele rastreia sintomas de TA, sem, obviamente, fazer um diagnóstico de tal quadro. Cada questão apresenta seis opções de resposta, em escala Likert. Escores maiores ou iguais a 21 pontos sugerem comportamentos de risco para TA. Nesse estudo, foi utilizada a versão traduzida e validada no Brasil por Bighetti e cols (2004)[109] (Anexo A). Somente um indivíduo do grupo controle apresentou alto comportamento de risco para TA, ou seja pontuação maior ou igual a 21, e foi retirado das análises.

b) Avaliação antropométrica

Foram aferidos peso (quilos) e estatura (metros), dos pacientes participantes da pesquisa, através de balança mecânica de consultório da marca Filizola, disponibilizadas pelo IPq-HC-FMUSP e estadiômetro contido na balança. Para essa aferição seguimos as técnicas padronizadas por Lohman et al. (1991)[113]. Para os indivíduos controles utilizamos peso e estatura referidos.

c) Avaliação psiquiátrica

Todos indivíduos passaram por no mínimo, uma avaliação psiquiátrica no início e durante o tratamento (atual ou anterior), feita pelos médicos psiquiatras da equipe do AMBULIM. Essa avaliação é baseada em entrevistas estruturadas do DSM 5, critério internacional já implementado no IPq-HC-FMUSP. Estes médicos possuem ampla experiência no diagnóstico e atendimento destes pacientes.

Com o objetivo de fechar corretamente o diagnóstico de TA, a confirmação deste, foi feita através da revisão dos prontuários de todos os pacientes participantes, por um médico psiquiatra especializado. Utilizamos os critérios atualizados do DSM 5 para todos os diagnósticos.

d) Análise genética

Foram utilizadas amostras sanguíneas para a realização da análise genética, a extração do DNA foi realizada a partir dos leocócitos. Foram coletados, de cada indivíduo, 10 mL de sangue periférico em tubo estéril contendo EDTA (do inglês, *Ethylenediamine tetraacetic acid*, ou ácido etilenodiamino tetra-acético, é um composto orgânico utilizado como anticoagulante), não sendo necessário jejum.

e) Extração do DNA

Para a extração utilizou-se o método *Salting Out* (Figura 5). Esta técnica consiste na adição de uma solução salina saturada que, ao competir com as proteínas pelas moléculas de solvente, promove uma agregação seguida de precipitação, já que as interações proteína-proteína se tornam energeticamente mais favoráveis que as interações proteína-solvente. Após a centrifugação, as proteínas e membranas ficam no fundo do tubo e o DNA no sobrenadante. A etapa seguinte é a precipitação do DNA pela adição de etanol absoluto, pois as interações entre este solvente e as moléculas de água favorecem a precipitação do DNA. Por fim, a solubilização do DNA é feita em água estéril ou tampão contendo agentes que possam inibir quaisquer enzimas que possam degradar o DNA[114]

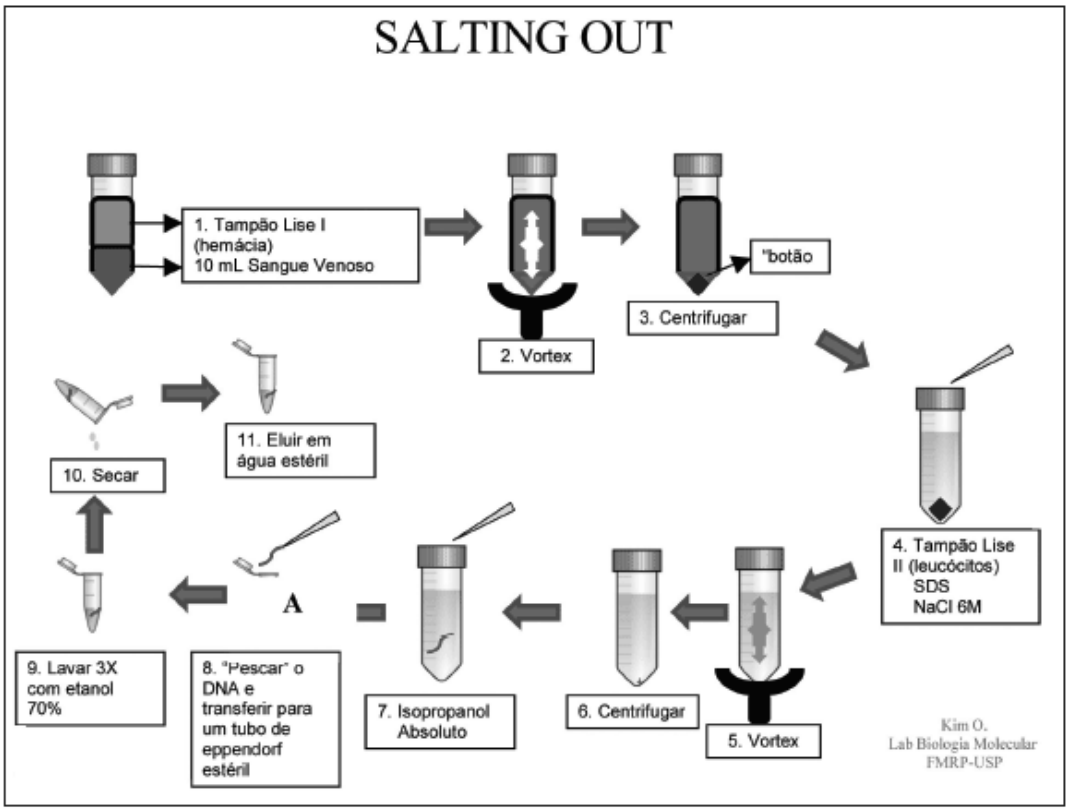


Figura 5– Extração de DNA de sangue periférico pelo método *Salting Out.* Adaptado de Roselino, 2008[115].

Neste trabalho, seguiu-se o protocolo utilizado no LIM 27, baseado no artigo de Laitinen et al.[116]. As etapas estão descritas a seguir:

1. 7 ml de sangue total coletado com EDTA
2. Transferir o sangue em um tubo Falcon de 50ml
3. Adicionar tampão de lise (Bloodlysis - 1X) - qsp 30ml
4. Homogeneizar por inversão e deixar hemolisar
5. Centrifugar por 15 min. a 3000 rpm a 4°C
6. Desprezar o sobrenadante
7. Adicionar Bloodlysis 1X, qsp 25ml
8. Homogeneizar até a dissolução do pellet
9. Centrifugar por 10 min. a 3000 rpm a 4°C
10. Desprezar o sobrenadante
11. Adicionar Bloodlysis 1X, qsp 15ml
12. Centrifugar a 3000 rpm por 10 min. a 4°C
13. Desprezar o sobrenadante
14. Adicionar 3ml de Nucleolysis 1X
15. Adicionar 300 µl de SDS 10%

16. Adicionar 10 µl de proteinase K (10mg/ml)
17. Homogeneizar e incubar a 37°C, over night
18. Adicionar 1 ml de NaCl 6M
19. Homogeneizar vigorosamente por 1 min.
20. Centrifugar a 3000 rpm por 10 min.
21. Transferir o sobrenadante em um tubo Falcon de 15 ml
22. Centrifugar a 3000 rpm por 10 min.
23. Transferir para um novo tubo Falcon de 15 ml
24. Adicionar Etanol Absoluto (o dobro do volume), neste tubo Falcon com o sobrenadante
25. Tampar o tubo e homogeneizar por inversão várias vezes até formar o precipitado de DNA
26. "Pescar" o precipitado com a ponteira e passar numa solução de Etanol 70%
27. Transferir o precipitado em um tubo (criotubo)
28. Deixar o precipitado de DNA secar em um banho seco
29. Adicionar 300 – 500 µl, dependendo do tamanho do precipitado de DNA
30. Incubar em banho seco 80°C, até completa dissolução do DNA
31. Após a dissolução do DNA, analisa-lo no nanodrop.

f) Reação em cadeia da polimerase (PCR)

A análise dos polimorfismo candidatos (rs495225 e rs10096097) foram feitas através de PCR (do inglês *Polymerase Chain Reaction*, ou reação em cadeia da polimerase) em tempo real. O PCR é utilizado para amplificar cópias de DNA "in vitro", usando os elementos básicos do processo de replicação natural do DNA. É um método rápido para amplificação de sequências específicas. Durante o PCR são usadas elevadas temperaturas de forma a separar as moléculas de DNA em duas fitas, permitindo então a ligação de oligonucleótidos iniciadores (*primers*), geralmente constituídos por 15 a 30 nucleótidos, obtidos por síntese química. A localização da sequência alvo é feita pelos *primers*. Cada uma das novas fitas de DNA estendidas, serve como molde para a síntese de uma nova fita, isso garante o aumento exponencial do número fitas, a cada ciclo, por meio da repetição da reação de polimerização[117] (Figura 6).

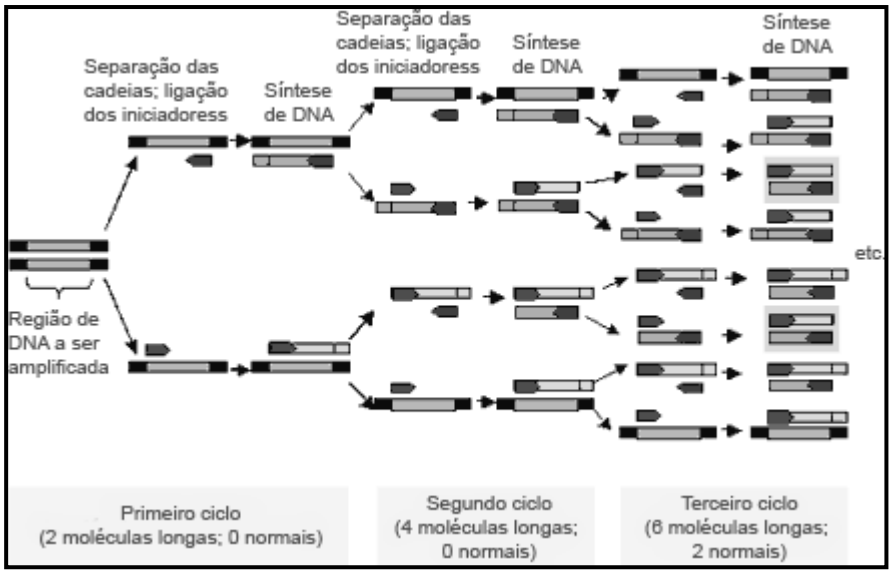


Figura 6 – Método de amplificação do DNA por PCR (reação em cadeia da polimerase). Adaptado de Alberts el al 2002[117].

Foram utilizados ensaios TaqMan genotyping assay (Life Technologies) para a análise do PCR em tempo real. As reações para a amplificação dos fragmentos de interesse utilizadas estão descritas no quadro abaixo (Quadro 5).

Quadro 5 - *Assays* utilizados no PCR

Gene	SNP ID	Assay ID	Localização	Sequência
GHS-R	rs495225	C___1079488_1_	Chr.3: 172166033	GCATGGTGAGCAGGTTGCCAG CGAT[A/G]CCCACCACGAAGAG TGCCACGCAGG*
MBOAT4	rs10096097	C___1492540_10	Chr.8: 30027098	CACAAACTACCCCGCCAGAAG GAGC[A/G]CCAGGGTTCACAGC AGGCTTTCAAT

Assay construído na fita complementar do DNA

A amplificação dos dois genes *GHS-R* e *MBOAT4* seguiu o seguinte protocolo: 2µM de DNA; 0,35µM de cada *Assay* 20 x (Life Technologies); 3,5 µM master mix 2X (Promega); 1,15 µM de H20 autoclavada, para um volume final de reação de 25µM.

A PCR foi realizada no termociclador ABI Real Time PCR 7500 (Termo Fisher Scientific), como segue: um ciclo de desnaturação inicial de 95ºC por 10 min, 45 ciclos alternados entre anelamento e alongamento (95ºC por 15s), e um ciclo de extensão (60ºC por 1 min). Após estes ciclos as amostras foram preservadas a 4 ºC.

A fluorescência de sondas de hidrólise específicas para os polimorfismos avaliaram o genótipo do indivíduo. Na Figura 7, estão demonstrados alguns gráficos gerados através das fluorescências das sondas do PCR tempo real de cada um dos possíveis genótipos do *GHS-R* (TT. TC, CC).

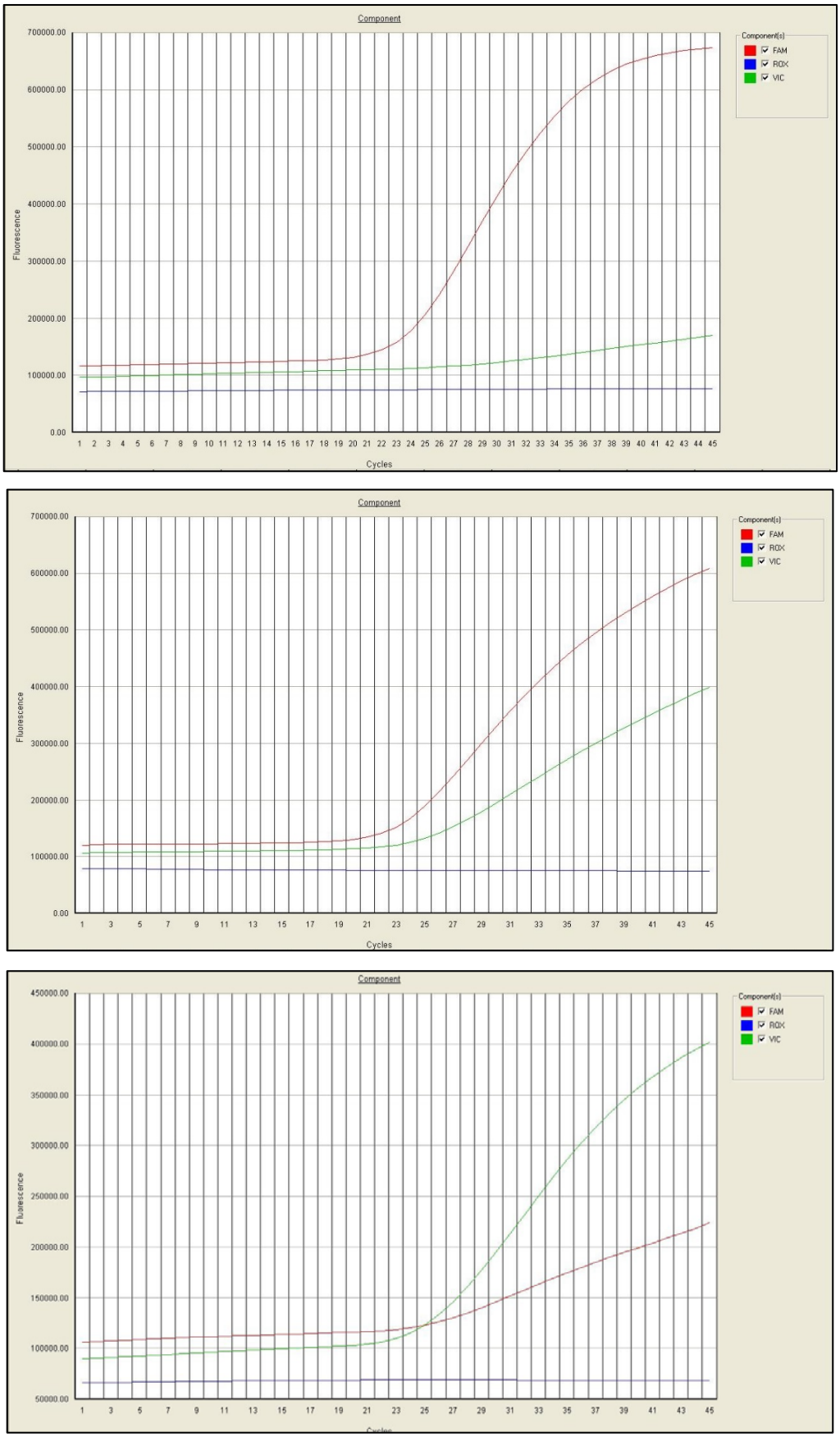


Figura 7 - Gráficos gerados através das fluorescências das sondas do PCR tempo real de cada um dos possíveis genótipos do *GHS-R* (TT. TC, CC respectivamente) referente ao polimorfismo rs495225.

O armazenamento e o uso futuro das amostras ocorreu de acordo com o regulamento do biorrepositório descrito no projeto “Avaliação de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares” aprovado pela CAPPesq (Anexo B).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram armazenados, organizados e tabulados em banco de dados do Excel.

As variáveis contínuas foram expressas como média e desvio padrão, as variáveis categóricas foram expressas como gênero, diagnóstico de TA, classificação de IMC e etnia. Para a comparação entre a médias das variáveis categóricas relativas ao diagnóstico de TA e as variáveis continuas relacionadas aos dados demográficos, estado nutricional e comportamento de risco para TA foi usado o teste ANOVA (análise de variância), seguido do *post hoc* Tukey. A frequência alélica foi calculada a partir da frequência genotípica. O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi determinado usando-se a frequência dos alelos através do teste qui-quadrado ($\chi 2$) de Pearson. Para avaliar a frequência dos polimorfismo entre os diagnósticos de AN, BN e TCA e os controles, foi usado o teste exato de Fisher. Foi considerado significância estatística $p<0,05$. Para análise das variáveis utilizou-se o programa R versão 3.2.2.

O cálculo amostral foi realizado *a priori* de acordo com as referências de Muller el al, 2011[106] e Miyasaka el al, 2006[103], para uma significância de 0,05 para um poder de 0,95 a amostra total deveria ser composta 152 indivíduos, sendo que metade desses indivíduos deveriam ser controles, consideramos por tanto, 76 pacientes e 76 controles. Para esse cálculo foi utilizado o programa G*Power versão 3.1.9.1.

3.6 ASPECTOS ÉTICOS

Todos os procedimentos foram realizados após a concordância da participação do sujeito e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) - (Apêndice C). Esta pesquisa não acarretou em nenhum risco aos sujeitos e os mesmos puderam desistir de sua participação em qualquer momento.

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (CEPH-IPUSP), sob o número de protocolo CAAE: 11201113.5.3001.0065 (Anexo C) e, está inserido no projeto de pesquisa “Análise de polimorfismos de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares” do AMBULIM e LIM-

27 também aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HC-FMUSP (CAPPesq), número de protocolo: CAAE 01946913.7.0000.0068 (Anexo D).

O projeto maior possuí como coordenadora a Dra. Sophie Deram, e tem como principal objetivo avaliar genes do sistema monoaminérgico e da regulação do apetite procurando fatores genéticos de risco para os TA nos pacientes do AMBULIM.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Foram estudados no total 137 indivíduos, sendo 82 pacientes com TA e 55 controles. Desta amostra somente 10 pacientes (12,2%) retornaram para a participar da pesquisa (pacientes antigos), o restante estava em atendimento (pacientes novos) e foram coletado nos ambulatórios e enfermaria do AMBULIM, durante o período da pesquisa. Utilizando os critérios de exclusão, foram retirados das análises: quatro casos com OTAE, dois casos acima de 50 anos, um controle acima de 50 anos, um controle pontuação do EAT 26 superior a 21 e um controle que havia feito cirurgia bariátrica. Foram considerados, por tanto, 128 indivíduos (76 pacientes e 52 controles).

Os pacientes foram divididos em grupos de acordo com o tipo de diagnóstico de TA e na AN classificou-se também a presença ou ausência de compulsão/purgação (AN-R e AN-P). As características demográficas, estado nutricional e comportamentos de risco para TA estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Características demográficas, estado nutricional e comportamentos de risco em pacientes com TA e controles

Variáveis	**AN-R n=04**	**AN-P n=19**	**BN n=36**	**TCA n=17**	**Controles n=52**
Gênero M/F (%)	0/4 (0,0/100,0)	3/16 (84,2/12,8)	8/28 (77,8/22,2)	1/16 (5,9/94,1)	11/41 (21,1/78,9)
Etnia (amarela/branca/ indígena/negra/parda)	0/3/1/0/0	0/12/0/4/3	0/20/0/5/11	0/11/0/1/5	2/43/0/3/4
Idade anos (média±DP)	27,7±6,3	32,7±9,0	33,0±8,4	37,7±7,7	31,4±8,9
Peso Kg (média±DP)	43,2±8,9	53,0±17,2^{A}	77,5±25,5^{B,C}	107,9±20,5^{D,E,F,G}	67,2±12,9
IMC Kg/m^2 (média±DP)	16,4±2,9	19,9±4,8^{H}	28,1±8,0^{I,J}	39,2±5,6^{K,L,M,N}	24,4±3,8
Classificação IMC (bp/et/sp/obI/ obII/obIII)	3/1/0/0/0	9/8/1/0/1/0	0/16/8/7/3/2	0/0/1/2/7/7	1/32/13/5/1/0
EAT 26 (média±DP)	35,5±28,4	43,4±18,4	37,8±15,9	22,4±7,0^{O,P}	6,3±4,5^{Q,R,S,T}

Os resultados são expressos em média e desvio padrão, para variáveis continuas, e números de casos e porcentagem para variáveis categóricas. Legenda: AN-R: anorexia nervosa restritiva; AN-P: anorexia nervosa purgativa; bp: baixo peso; BN: bulimia nervosa; et: eutrofia; DP :desvio padrão; F: feminino; IMC: índice de massa corporal; Kg: kilogramas; M: masculino; obI: obesidade grau I; obII: obesidade grau II; obIII: obesidade grau III; sp: sobrepeso; TCA: transtorno da compulsão alimentar.

^{A}p<0,04 *vs* controle (ANOVA e *post hoc* Tukey); ^{B}p<0,01 *vs* AN-R, ^{C}p*<0,00 vs* AN-P (ANOVA e *post hoc* Tukey); ^{D}p<0,00 *vs* AN-R, ^{E}p<0,00 *vs* AN-P, ^{F}p<0,00 *vs* BN, ^{G}p<0,00 *vs* controle (ANOVA e *post hoc* Tukey); ^{H}p<0,02 *vs* controle (ANOVA e *post hoc* Tukey); ^{I}p<0,00 *vs* AN-R, ^{J}p<0,00 *vs* AN-P (ANOVA e *post hoc* Tukey); ^{K}p<0,00 *vs* AN-R, ^{L}p<0,00 *vs* AN-P, ^{M}p<0,00 *vs* BN, ^{N}p<0,00 *vs* controle (ANOVA e *post hoc* Tukey);^{O}p<0,00 *vs* AN-P, ^{P}p<0,00 *vs* BN (ANOVA e *post hoc* Tukey); ^{Q}p<0,00 *vs* AN-R, ^{R}p<0,00 *vs* AN-P, ^{S}p<0,00 *vs* BN e ^{T}p<0,00 *vs* TCA (ANOVA e *post hoc* Tukey).

As médias de peso e IMC foram menores nos grupos AN-R e AN-P, embora somente o grupo AN-P tenha demonstrado diferença significativa em comparação aos controles (peso - 53,0 Kg *versus* 67,2 Kg, $p<0,04$ e IMC – 19,9 Kg/m^2 *versus* 24,4 Kg/m^2, $p<0,02$). O grupo da BN obteve médias de peso e IMC significativamente maior em comparação aos grupos AN-R (peso - 77,5 Kg *versus* 43,2 Kg, $p<0,01$ e IMC – 28,1 Kg/m^2 *versus* 16,4 Kg/m^2, $p<0,00$) e AN-P (peso - 77,5 Kg *versus* 53,0 Kg, $p<0,00$ e IMC – 28,1 Kg/m^2 *versus* 19,9 Kg/m^2, $p<0,00$). O grupo TCA também obteve médias de peso e IMC significativamente maior (peso – 107,9 Kg e IMC 39,2 Kg/m^2) em comparação a todos os outros grupos: AN-R (*versus* peso – 43,2 Kg e IMC – 16,4 Kg/m^2, $p<0,00$ e $p<0,00$ respectivamente), AN-P (*versus* peso – 53,0 Kg e IMC – 19,9 Kg/m^2, $p<0,00$ e $p<0,00$ respectivamente), BN (*versus* peso – 77,5 Kg e IMC – 25,5 Kg/m^2, $p<0,00$ e $p<0,00$ respectivamente) e controles (*versus* peso – 67,2 Kg e IMC – 24,4 Kg/m^2, $p<0,00$ e $p<0,00$ respectivamente).

O teste EAT 26 teve sua pontuação média significativamente menor nos controles (6,3) em comparação a todos os grupos com diagnósticos de TA: AN-R (*versus* 35,5, $p<0,00$), AN-P (*versus* 43,3, $p<0,00$); BN (*versus* 37,8, $p<0,00$) e TCA (*versus* 22,4, $p<0,00$), sendo que no TCA a pontuação média também foi significativamente menor em comparação aos grupos AN-P e BN. A maior pontuação média foi encontrada no grupo AN-P.

4.2 ASSOCIAÇÃO DO SNP RS495225 DO GENE *GHS-R* COM OS TAS

A distribuição dos genótipos da população foi consistente com o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$), e por esse motivo, apesar da coleta não ter alcançado o número mínimo total de 152 indivíduos, o tamanho amostral (n=128) mostrou-se adequado para avaliar os polimorfismos. Não houve diferença significativa na frequência dos genótipos do SNP rs495225 do gene *GHS-R* entre os diagnósticos de TA e a população controle (Tabela 2).

Tabela 2- Frequência dos genótipos e de alelos do SNP rs495225 (T/C) do gene *GHS-R* em pacientes com TA e controles

Grupos	n	Genótipos n (%)			Alelos (%)	
		TT	TC	CC	T	C
Controles	52	24 (46,1%)	17 (32,7%)	11 (15,8%)	0,62	0,38
AN-R	04	0 (0,0%)	2 (50,0%)	2 (50,0%)	0,25	0,75
AN-P	19	9 (47,4%)	7 (36,8%)	3 (15,8%)	0,66	0,34
BN	36	12 (33,3%)	19 (52,8%)	5 (13,9%)	0,60	0,40
TCA	17	7 (41,2%)	7 (41,8%)	3 (17,6%)	0,62	0,38

p=NS (Teste exato de Fisher). Legenda: NS – não significativo

4.3 Associação do SNP rs10096097 do gene *MBOAT4* com os TAs

A distribuição dos genótipos também foi consistente com o equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p>0,05$) na população estudada. Não houve diferença significativa na frequência dos genótipos do SNP rs10096097 do gene *MBOAT4* entre os diagnósticos de TA e a população controle (Tabela 3).

Tabela 3- Frequência dos genótipos e de alelos do SNP rs10096097 (A/G) do gene *MBOAT4* em pacientes com TA e controles

Grupos	n	Genótipos n (%)			Alelos (%)	
		AA	AG	GG	A	G
Controles	52	21 (40,4%)	24 (46,1%)	7 (13,5%)	0,68	0,37
AN-R	04	2 (50,0%)	2 (50,0%)	0 (0,0%)	0,75	0,25
AN-P	19	11 (57,9%)	6 (31,6%)	2 (10,5%)	0,74	0,26
BN	36	19 (52,8%)	13 (36,1%)	4 (11,1%)	0,71	0,29
TCA	17	9 (52,9%)	7 (41,2%)	1 (5,9%)	0,74	0,26

p=NS(Teste exato de Fisher). Legenda: NS – não significativo

5 DISCUSSÃO

Os TA podem levar a importantes complicações biológicas, psicológicas e sociais[4] e têm a maior taxa de mortalidade entre todas as síndromes psiquiátricas[13]. Alguns estudos sugerem que os genes envolvidos na regulação do consumo alimentar e do peso corporal, podem estar relacionados com sua etiologia, nesse sentido, os polimorfismo nos genes do sistema grelina vêm sendo amplamente investigados por diversos países[32].

A identificação de fatores genéticos de suscetibilidade podem ajudar na identificação de mecanismos causais, colaborando assim, para uma maior eficácia dos tratamentos oferecidos e possibilitando um melhor direcionamento nas intervenções relacionadas a prevenção[107].

No presente estudo, avaliamos a associação entre os SNPs dos genes *GHS-R* (rs495225) e *MBOAT4* (rs10096097) com os diagnósticos de AN, BN, TCA em tratamento ambulatorial/enfermaria e controles.

Foram encontradas diferenças significativas com relação a comparação das médias de peso e IMC entre os grupos AN-P, BN e TCA. Isso já era esperado pois, o estado nutricional é um critério relevante para o diagnóstico do TA, principalmente na AN e no TCA onde os indivíduos, em sua maioria, são considerados baixo peso e/ou eutróficos (próximo ao limite inferior da eutrofia – 18,5 Kg/m^2) na AN, e com sobrepeso e/ou obesidade no TCA. Já na BN, o estado nutricional fica mais próximo a eutrofia e/ou sobrepeso[2]. Apesar do grupo AN-R ter obtido a menor média de peso e IMC, as análises não encontraram diferenças significativas. A prevalência de indivíduos com o diagnóstico de AN-R na idade adulta é menor que na infância e adolescência, pacientes com hábitos compulsivos/purgativos são mais frequentes nesta faixa etária[118]. No AMBULIM é raro encontrarmos um paciente que tenha recebido o diagnóstico de AN-R, geralmente os pacientes com AN fazem uso de algum método purgativo.

Também como o previsto, houve diferenças significativas na pontuação média do EAT 26 entre os grupos controle e com diagnósticos de TA, sendo que a pontuação média nesses grupos foi superior a 21. Houve uma diferença significativamente menor na pontuação média dos pacientes com TCA em relação a AN-P e a BN. Pela ausência de métodos compensatórios no TCA, é possível que esses pacientes não somem pontos na parte de compensações/purgações da escala e por este motivo tenham uma menor pontuação final. O EAT é o instrumento mais utilizado no mundo para rastrear comportamentos de risco para TA na população geral, possuí uma taxa de precisão de no mínimo 90%[111]. Sua utilização em pacientes com TA pode ser considerada redundante,

uma vez que estes pacientes já tenham diagnóstico confirmado. Contudo, como o estudo possuí um grupo controle, optou-se por utilizá-lo em toda a amostra para garantir que esse grupo fosse saudável.

Diversos SNPs relacionados ao gene *GHRL* foram investigados em relação aos TA. Cellini et al.[90] em 2006, Monteleone et al.[99] em 2006 e Kindler et al.[100] em 2011, pesquisaram a associação entre diferentes SNPs no gene *GHRL* e AN, BN e TCA; não encontraram nenhuma associação. Ando et al.[101] em 2006, procuraram associação entre diferentes SNPs no gene *GHRL* com AN-R, AN-P e BN, encontraram associação positiva nos SNPs rs2075356, rs696217 e BN. Dardennes et al.[102] em 2007, avaliou dois SNPs no gene *GHRL* em trios familiares com AN-R e AN-P, e também encontraram associação entre o SNP rs696217, mas desta vez com AN-P. Os resultados observados foram muito divergentes, por este motivo, foram pesquisados outros genes que participam do sistema grelina (*GHS-R* e o *MBOAT4*) e que já haviam mostrado associação com os TA em estudos anteriores.

No presente estudo, a frequência do alelo C no gene *GHS-R* na posição 171 (171T/C) não se associou a nenhum dos diagnósticos de TA (AN, BN e TCA). O SNP rs495225 localizado no gene *GHS-R* foi selecionado para este trabalho pela positiva associação entre o genótipo CC e BN encontrada na população japonesa em 2006 por Miyasaka et al.[103]. Não há registro, até o momento, desta investigação ter sido realizada anteriormente entre os diagnósticos de TA na população brasileira.

No estudo de Miyasaka et al.[103] os autores encontraram uma frequência menor do genótipo CC na AN-R do que nos outros subgrupos (AN-P, BN-P e BN-NP), por isso sugeriram que este genótipo teria uma fraca associação com o fenótipo “compulsão alimentar”. Esse achado não se repetiu no atual trabalho.

Outra alternativa seria a de existir um DL com outro polimorfismo funcional que possa estar envolvido em um mecanismo subjacente. Apesar deste polimorfismo se encontrar em uma região codificadora do gene *GHS-R* (éxon 1), ele não altera a sequência de aminoácidos produzida, o que torna esta possibilidade viável[103]. A presença de uma variante pode fornecer informações sobre a presença de outras variantes ao longo do cromossomo e regiões com altos níveis de DL também possuem um número reduzido de haplótipos. Se um aumento substancial no risco da doença é causada por um único SNP, uma associação pode ser observada entre esse risco e outros SNPs em DL com o SNP causal[105].

O presente estudo não analisou os DLs dessa região, no entanto, Baessler et al.[119] em 2005 relataram associação entre cinco SNPs no gene *GHS-R* (rs509035, rs572169, rs519384, rs512692 e rs863441) seus haplótipos e o IMC. Os pesquisadores notaram que a região que abrange estes SNPs, possuí um alto nível de DL, sugeriram ainda, evidências para a transmissão desequilibrada dos alelos recessivos destes SPNs, assim como, para os dois mais comuns haplótipos destes cinco SNPs e a obesidade. Embora o SNP rs 495225 não tenha sido avaliado neste estudo, esta região incluí o éxon 1 e há a possibilidade de que esses haplótipos sejam importantes também para os TA.

Neste estudo, a frequência do alelo G no gene *MBOAT4* não se associou com nenhum dos diagnósticos de TA (AN, BN e TCA). O SNP rs10096097 no gene *MBOAT4* foi selecionado pela associação entre o genótipo GG e AN encontrada na Alemanha por Muller et al.[106], em 2011. Até o presente, nenhuma outra pesquisa brasileira avaliou esta associação.

Este polimorfismo encontra-se na região promotora do gene *MBOAT4*, próximo ao *start códon*, e possuí uma maior probabilidade de modificar a expressão do gene e por consequência aumentar e/ou diminuir a quantidade de proteína formada no processo de transcrição, ou ainda, modificar a estrutura da proteína formada e/ou gerar uma perda em sua função. No entanto, a potencial implicação desta variação nos TA ainda é desconhecida.

Este estudo não avaliou os DLs no gene *MBOAT4*, mas considera a possibilidade de haver algum DL entre esse polimorfismo e as variações do gene *DCNT6* (Gene ID: 10671[88]), que se localiza no cromossomo 8, bem próximo do gene *MBOAT4*. Principalmente se considerarmos que suas respectivas regiões promotoras coincidem (Figura 7). Esse gene é uma subunidade do complexo dinactina, que é um componente essencial para a atividade motora dos microtúbulos citoplasmáticos no transporte de várias cargas e organelas, sua exata função biológica ainda é desconhecida[120].

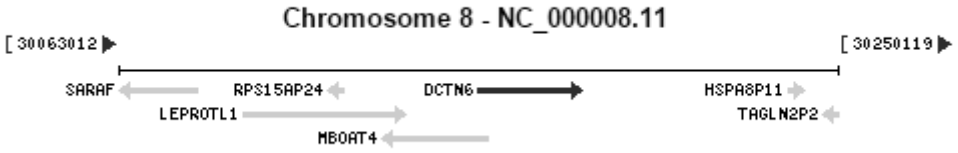


Figura 8 – Representação do cromosso 8 e seus respectivos genes. Note a proximidade dos genes *DCTN6* (em cinza escuro) e *MBOAT4* (em cinza claro). O sentido da seta indica a maneira que ocorre a leitura na transcrição. Fonte: NCBI [88]

Por causa de suas funções biológicas e respectivas localizações, os genes *GHS-R* e *MBOAT*4 são fortes genes candidatos para a obesidade e outros distúrbios da alimentação, entretanto, essa associação não foi encontrada no atual estudo. Outros estudos são necessários para esclarecer se suas variantes podem interferir na regulação do apetite e/ou possam ser um fator de risco para o desenvolvimento dos TA.

Estudar genética em TA no Brasil constituí um grande desafio, primeiramente, por causa do alto custo deste tipo de pesquisa e o fato de que estas pesquisas consomem muito tempo, aliado a necessidade de se ter vários centros de pesquisa em TA colaborando simultaneamente, com diferentes níveis de experiências clínicas e de pesquisa entre os primeiros centros (São Paulo, Rio de Janeiro e Porto Alegre) e os centros mais recentes. Já as questões técnicas referem-se às especificidades da pesquisa em genética com em uma população miscigenada. Os estudos genéticos mais rigorosos sobre AN e BN, foram desenvolvidos em populações mais homogêneas, assim a herdabilidade entre diferentes grupos étnicos ainda é desconhecida[34]. Por outro lado, estudar em larga escala as síndromes alimentares genéticas em um país como o Brasil, oferece um maior entendimento sobre essa contribuição para a etiologia dos TA no mundo.

Para ilustrar este desafio, ressaltamos a dificuldade em se coletar pacientes psiquiátricos. Nesse estudo, tivemos somente 12,2% de retorno dos pacientes antigos que colaboraram na pesquisa. Isso se deve tanto pela dificuldade de entrar em contato com esses pacientes (troca de telefones e endereços) como pela resistência do retorno ao AMBULIM, uma vez que esses já tiveram alta do tratamento. Muitos pacientes graves internados, principalmente com o diagnóstico de AN, se recusaram a participar da pesquisa. Acreditamos que a internação involuntária desses pacientes (a maioria dos casos da enfermaria de comportamento alimentar), possa resultar em uma menor colaboração.

Vale destacar que este estudo é pioneiro no AMBULIM, portanto, foi o ponto de partida para iniciar pesquisas genéticas no ambulatório e possibilitou a criação de um banco de dados e de amostras de DNA no período deste mestrado.

Dentre as limitações deste estudo, destacam-se o tamanho amostral, que se apresenta reduzido principalmente no grupo AN-R, e que talvez por isso, não tenha poder suficiente para detectar as diferenças, a população amostral por não ter sido selecionada aleatoriamente, a dificuldade de adesão dos pacientes a pesquisa, a perda amostral e a falta de recursos financeiros.

Como sugestão para superar estas limitações em pesquisas posteriores, salientamos a necessidade de se realizar um estudo multicêntrico no Brasil, que possibilite a seleção de uma amostra representativa.

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, o presente estudo não encontrou associação entre a frequência dos SPNs rs495225 no gene *GHS-R* e rs10096097 no gene *MBOAT4* e os diagnósticos de AN, BN e TCA comparando com o grupo controle. No entanto, ressalta a possibilidade destes genes estarem envolvidos na etiologia da obesidade e de outros distúrbios da alimentação. Mais estudos são necessários, com uma população amostral maior, para esclarecer se as variações nesses genes podem ser um fator de risco para o desenvolvimento dos TA.

REFERÊNCIAS[Δ]

1. AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-IV-TR).* Washington DC: APA Press, 2000.

2. AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-V).* Washington DC: APA Press, 2013.

3. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Classificação de transtornos mentais e do comportamento da CID-10:* Descrições clínicas e diretrizes diagnósticas: Artes Médicas, 1993.

4. AMERICAN DIETETIC ASSOCIATION. *Position of the American Dietetic Association*: Nutrition intervention in the treatment of anorexia nervosa, bulimia nervosa, and other eating disorders. Journal of the American Dietetic Association. [S. l.], 2006. p. 2073-82.

5. CORDÁS, T. A.; SALZANO, F. T. Aspectos gerais dos transtornos alimentares: características, critérios diagnósticos, epidemiologia e etiologia. In: ALVARENGA M. et al. *Nutrição e transtornos alimentares: avaliação e tratamento.* Barueri: Manole, p.5-15. 2011.

6. PINZON, V.; NOGUEIRA, F. C. Epidemiologia, curso e evolução dos transtornos alimentares. *Revista de Psiquiatria Clínica,* v. 4, n. 31, p. 158-160, 2004.

7. CORDÁS, T. A.; CLAUDINO, A. M. Transtornos alimentares: fundamentos históricos. *Revista Brasileira de Psiquiatria,* v. 24, n. Supl III, p. 3-4. 2002.

8. MORGAN, C. M.; VECCHIATTIA, I. R.; NEGRÃO, A. B. Etiologia dos transtornos alimentares: aspectos biológicos, psicológicos e sócio-culturais. *Revista de Psiquiatria Clínica***,** v. 24, n. Supl III, p. 18-23, 2002.

9 JACOBI, C. et al. Coming to terms with risk factors for eating disorders: application of risk terminology and suggestions for a general taxonomy. *Psychological Bulletin,* United States**,** v. 130, n. 1, p. 19-65, 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1037/0033-2909.130.1.19 >. Acesso em 20 abr. 2015.

10. DALLE GRAVE, R. Genetic and environmental influences on anorexia nervosa syndromes in a population-based twin sample Eating disorders: progress and challenges. In: *European Journal Internal Medicine*. Netherlands: 2010 European Federation of Internal Medicine. Published by Elsevier B.V, v.22, 2011. p. 153-60.

[Δ] De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 6023.

11. SMINK, F. R.; VAN HOEKEN, D.; HOEK, H. W. Epidemiology of eating disorders: incidence, prevalence and mortality rates. *Current Psychiatry Reports*, v. 14, n. 4, p. 406-14, Aug 2012. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/s11920-012-0282-y >. Acesso em 20 abr. 2015.

12. MATHERS, C. D. et al. The Australian Burden of Disease Study: measuring the loss of health from diseases, injuries and risk factors. *The Medical Journal of Australia,* v. 172, n. 12, p. 592-6, Jun 19 2000. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 20 abr. 2015.

13. SULLIVAN, P. F. Mortality in anorexia nervosa. *The American Journal of Psychiatry,* v. 152, n. 7, p. 1073-4, Jul 1995. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1176/ajp.152.7.1073 >. Acesso em 04 mai. 2015.

14. DO VALE, A. M.; KERR, L. R.; BOSI, M. L. Risk behaviors for eating disorders among female adolescents from different social strata in the Brazilian Northeastern. *Ciência & Saúde Coletiva,* v. 16, n. 1, p. 121-32, Jan 2011. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 04 mai. 2015.

15. NUNES, M.A. *Prevalência de comportamentos alimentares anormais e práticas inadequadas de controle de peso em mulheres de 12 a 21 anos em Porto Alegre*. 1997. Universidade Federal de Pelotas, Porto Alegre.

16. MS, A.; FB, S.; ST., P. Comportamento de risco para transtorno alimentar em universitÃ¡rias brasileiras. *Revista de Psiquiatria Clínica,* v. 38, n. 1, p. 3-7, 2010. Disponível em: < http://www.hcnet.usp.br/ipq/revista/vol38/n1/03.htm >. Acesso em 04 mai. 2015.

17. PRISCO, A. P. K. et al. Prevalence of eating disorders in urban workers in a city of the northeast of Brazil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 18, n. 4, p. 1109-1118, 2013. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S141381232013000400024&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >. Acesso em 04 mai. 2015.

18. STRIEGEL-MOORE, R. H.; BULIK, C. M. Risk factors for eating disorders. *The American Psychologist*, United States, v. 62, n. 3, p. 181-98, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1037/0003-066x.62.3.181 >. Acesso em 04 mai. 2015.

19. GARNER, D. M.; GARFINKEL, P. E. Socio-cultural factors in the development of anorexia nervosa. *Psychological Medicine*, v. 10, n. 4, p. 647-56, Nov 1980. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 04 mai. 2015.

20. BULIK, C. M. et al. Twin studies of eating disorders: a review. *The Internacional Journal of Eating Disorders*, United States, v. 27, n. 1, p. 1-20, 2000. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 04 mai. 2015.

21. _____. The genetics of anorexia nervosa. *Annual Review of Nutrition*, v. 27, p. 263-75, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093713 >. Acesso em 04 mai. 2015.

22. MITCHISON, D.; HAY, P. J. The epidemiology of eating disorders: genetic, environmental, and societal factors. *Clinical Epidemiology*, New Zealand, v. 6, p. 89-97, 2014. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.2147/clep.s40841 >. Acesso em 04 mai. 2015.

23. KLUMP, K. L. et al. Genetic and environmental influences on anorexia nervosa syndromes in a population-based twin sample. *Psychological Medicine*, v. 31, n. 4, p. 737-40, May 2001. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 04 mai. 2015.

24. JULI, G.; JULI, L. The starting point of eating disorders: role of genetics. *Psychiatria Danubina*, v. 26 Suppl 1, p. 126-31, Nov 2014. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 10 mai. 2015.

25. BIRD, T. D.; JARVIK, G. P.; WOOD, N. W. Genetic association studies: genes in search of diseases. *Neurology*, v. 57, n. 7, p. 1153-4, Oct 9 2001. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 10 mai. 2015.

26. BISHOP, T.; SHAM, P. *Analysis of multifactorial disease*. Oxford: BIOS Scientific Publishers Ltda, 2000.

27. JOHN, S. et al. Whole-genome scan, in a complex disease, using 11,245 single-nucleotide polymorphisms: comparison with microsatellites. *American Journal of Human Genetics*, United States, v. 75, n. 1, p. 54-64, 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1086/422195 >. Acesso em 10 mai. 2015.

28. KWON, J. M.; GOATE, A. M. The candidate gene approach. *Alcohol Research & Health*, v. 24, n. 3, p. 164-8, 2000. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 10 mai. 2015.

29. ZHU, M.; ZHAO, S. Candidate gene identification approach: progress and challenges. *International Journal of Biological Sciences*, v. 3, n. 7, p. 420-7, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 10 mai. 2015.

30. FREY, J. et al. Reduced body fat in long-term followed-up female patients with anorexia nervosa. *Journal of Psychiatric Research*, England, v. 34, n. 1, p. 83-8, 2000. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 10 mai. 2015.

31. CELLINI, E. et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in Italian patients with eating disorders and obesity. *Psychiatric Genetics*, v. 20, n. 6, p. 282-8, Dec 2010. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1097/YPG.0b013e32833a2142 >. Acesso em 10 mai. 2015.

32. HINNEY, A. et al. Genetic risk factors in eating disorders. *American Journal of Pharmacogenomics*, New Zealand, v. 4, n. 4, p. 209-23, 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 18 mai. 2015.

33. HEBEBRAND, J.; REMSCHMIDT, H. Anorexia nervosa viewed as an extreme weight condition: genetic implications. *Human Genetics*, v. 95, n. 1, p. 1-11, Jan 1995. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 18 mai. 2015.

34. PINHEIRO, A. P. et al. Genetics in eating disorders: extending the boundaries of research. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, Brazil, v. 28, n. 3, p. 218-25, 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 18 mai. 2015.

35. SULEK, S. et al. Genetic polymorphisms as a risk factor for anorexia nervosa. *Prague Med Rep*, v. 108, n. 3, p. 215-25, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 18 mai. 2015.

36. SCHERAG, S.; HEBEBRAND, J.; HINNEY, A. Eating disorders: the current status of molecular genetic research. *European Child & Adolescent Psychiatry*, v. 19, n. 3, p. 211-26, Mar 2010. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/s00787-009-0085-9 >. Acesso em 18 mai. 2015.

37. SMITKA, K. et al. The role of "mixed" orexigenic and anorexigenic signals and autoantibodies reacting with appetite-regulating neuropeptides and peptides of the adipose tissue-gut-brain axis: relevance to food intake and nutritional status in patients with anorexia nervosa and bulimia nervosa. *International Journal of Endocrinology*, v. 2013, p. 483145, 2013. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1155/2013/483145 >. Acesso em 18 mai. 2015.

38. ATALAYER, D. et al. Ghrelin and eating disorders. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 40, p. 70-82, Jan 10 2013. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.08.011 >. Acesso em 18 mai. 2015.

39. DRUCE, M.; BLOOM, S. R. The regulation of appetite. *Archives of Disease in Childhood*, England, v. 91, n. 2, p. 183-7, 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1136/adc.2005.073759 >. Acesso em 18 mai. 2015.

40. SEOANE, L. M. et al. Agouti-related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin-producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. *Endocrinology*, v. 144, n. 2, p. 544-51, Feb 2003. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/en.2002-220795 >. Acesso em 18 mai. 2015.

41. COWLEY, M. A. et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, United States, v. 37, n. 4, p. 649-61, 2003. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 06 jun. 2015.

42. SCERIF, M.; GOLDSTONE, A. P.; KORBONITS, M. Ghrelin in obesity and endocrine diseases. *Molecular and Cellular Endocrinology,* Ireland, v. 340, n. 1, p. 15-25, 2011. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2011.02.011 >. Acesso em 06 jun. 2015.

43. CUMMINGS, D. E. et al. Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism,* United States, v. 287, n. 2, p. E297-304, 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00582.2003 >. Acesso em 06 jun. 2015.

44. _____. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes,* v. 50, n. 8, p. 1714-9, Aug 2001. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 06 jun. 2015.

45. TUCCI, S. Grelina en regulación del apetito y papel en obesidad y trastornos alimentarios: Abordajes terapéuticos. *Revista Venezolana de Endocrinologia y Metabolismo,* 06/2008 2008. Disponível em: < http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS⟨=p&nextAction=lnk&exprSearch=631349&indexSearch=ID >. Acesso em 06 jun. 2015.

46. YANG, J. et al. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell,* United States, v. 132, n. 3, p. 387-96, 2008. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.017 >. Acesso em 06 jun. 2015.

47. HASSOUNA, R.; ZIZZARI, P.; TOLLE, V. The ghrelin/obestatin balance in the physiological and pathological control of growth hormone secretion, body composition and food intake. *Journal of Neuroendocrinology,* England, v. 22, n. 7, p. 793-804, 2010. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02019.x >. Acesso em 06 jun. 2015.

48. HOSODA, H. et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochemical Biophysical Research Communications,* United States, v. 279, n. 3, p. 909-13, 2000. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.2000.4039 >. Acesso em 06 jun. 2015.

49. KOJIMA, M. et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature,* v. 402, n. 6762, p. 656-60, Dec 9 1999. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1038/45230 >. Acesso em 12 jun. 2015.

50. HOWARD, A. D. et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science,* v. 273, n. 5277, p. 974-7, Aug 16 1996. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 12 jun. 2015.

51. SMITH, R. G. et al. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocrine Reviews,* v. 18, n. 5, p. 621-45, Oct 1997. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/edrv.18.5.0316 >. Acesso em 12 jun. 2015.

52. SATO, T. et al. Structure, regulation and function of ghrelin. *Journal of Biochemistry,* England, v. 151, n. 2, p. 119-28, 2012. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1093/jb/mvr134 >. Acesso em 11 jul. 2015.

53. TSCHOP, M. et al. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes,* v. 50, n. 4, p. 707-9, Apr 2001. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 11 jul. 2015.

54. SHIIYA, T. et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism,* v. 87, n. 1, p. 240-4, Jan 2002. ISSN 0021-972X. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11788653 >. Acesso em 11 jul. 2015.

55. ERDMANN, J. et al. Differential association of basal and postprandial plasma ghrelin with leptin, insulin, and type 2 diabetes. *Diabetes,* United States, v. 54, n. 5, p. 1371-8, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 11 jul. 2015.

56. STOCK, S. et al. Ghrelin, peptide YY, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, and hunger responses to a mixed meal in anorexic, obese, and control female adolescents. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism,* United States, v. 90, n. 4, p. 2161-8, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/jc.2004-1251 >. Acesso em 11 jul. 2015.

57. ENGLISH, P. J. et al. Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism,* v. 87, n. 6, p. 2984, Jun 2002. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/jcem.87.6.8738 >. Acesso em 11 jul. 2015.

58. SORIANO-GUILLEN, L. et al. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. *The Journal of Pediatrics, United States,* v. 144, n. 1, p. 36-42, 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2003.10.036 >. Acesso em 11 jul. 2015.

59. WALI, P. et al. Ghrelin and obestatin levels in children with failure to thrive and obesity. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition,* v. 58, n. 3, p. 376-81, Mar 2014. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1097/mpg.0000000000000223 >. Acesso em 11 jul. 2015.

60. CUMMINGS, D. E. et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *The New England Journal of Medicine,* United States, v. 346, n. 21, p. 1623-30, 2002. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa012908 >. Acesso em 11 jul. 2015.

61. HANSEN, T. K. et al. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clinical Endocrinology*, England, v. 56, n. 2, p. 203-6, 2002. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 11 jul. 2015.

62. NEDVÍDKOVÁ, J. et al. Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 88, n. 4, p. 1678-82, Apr 2003. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12679456 >. Acesso em 11 jul. 2015.

63. OTTO, B. et al. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *European Journal of Endocrinology*, v. 145, n. 5, p. 669-73, Nov 2001. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 11 jul. 2015.

64. MONTELEONE, P. et al. Plasma obestatin, ghrelin, and ghrelin/obestatin ratio are increased in underweight patients with anorexia nervosa but not in symptomatic patients with bulimia nervosa. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, United States, v. 93, n. 11, p. 4418-21, 2008. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/jc.2008-1138 >. Acesso em 11 jul. 2015.

65. ARIYASU, H. et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 86, n. 10, p. 4753-8, Oct 2001. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11600536 >. Acesso em 11 jul. 2015.

66. MISRA, M. et al. Growth hormone and ghrelin responses to an oral glucose load in adolescent girls with anorexia nervosa and controls. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 89, n. 4, p. 1605-12, Apr 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/jc.2003-031861 >. Acesso em 11 jul. 2015.

67. YI, C. X.; HEPPNER, K.; TSCHOP, M. H. Ghrelin in eating disorders. In: *Molecular and Cellular Endocrinology*. Ireland: 2011 Elsevier Ireland Ltd, v.340, 2011. p.29-34.

68. TOLLE, V. et al. Balance in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 88, n. 1, p. 109-16, Jan 2003. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12519838 >. Acesso em 11 jul. 2015.

69. JANAS-KOZIK, M. et al. Total ghrelin plasma level in patients with the restrictive type of anorexia nervosa. *Regulatory Peptides*, Netherlands, v. 140, n. 1-2, p. 43-6, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.regpep.2006.11.005 >. Acesso em 11 jul. 2015.

70. NAKAHARA, T. et al. Incomplete restoration of the secretion of ghrelin and PYY compared to insulin after food ingestion following weight gain in anorexia nervosa. *Journal of Psychiatric Research*, England, v. 41, n. 10, p. 814-20, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2006.07.021 >. Acesso em 16 jul. 2015.

71. TERRA, X. et al. Adipocytokine levels in women with anorexia nervosa. Relationship with weight restoration and disease duration. *The Internacional Journal of Eating Disorders*, v. 46, n. 8, p. 855-61, Dec 2013. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/eat.22166 >. Acesso em 16 jul. 2015.

72. OTTO, B. et al. Postprandial ghrelin release in anorectic patients before and after weight gain. *Psychoneuroendocrinology*, England, v. 30, n. 6, p. 577-81, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2005.01.009 >. Acesso em 16 jul. 2015.

73. TANAKA, M. et al. Habitual binge/purge behavior influences circulating ghrelin levels in eating disorders. *Journal of Psychiatric Research*, v. 37, n. 1, p. 17-22, 2003 Jan-Feb 2003. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12482466 >. Acesso em 16 jul. 2015.

74. _____. Fasting plasma ghrelin levels in subtypes of anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, England, v. 28, n. 7, p. 829-35, 2003. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 16 jul. 2015.

75. _____. Eating pattern and the effect of oral glucose on ghrelin and insulin secretion in patients with anorexia nervosa. *Clinical Endocrinology*, England, v. 59, n. 5, p. 574-9, 2003. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 16 jul. 2015.

76. _____. Effect of nutritional rehabilitation on circulating ghrelin and growth hormone levels in patients with anorexia nervosa. *Regulatory Peptides, Netherlands*, v. 122, n. 3, p. 163-8, 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.regpep.2004.06.015 >. Acesso em 16 jul. 2015.

77. TROISI, A. et al. Plasma ghrelin in anorexia, bulimia, and binge-eating disorder: relations with eating patterns and circulating concentrations of cortisol and thyroid hormones. *Neuroendocrinology*, Switzerland, v. 81, n. 4, p. 259-66, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1159/000087923 >. Acesso em 16 jul. 2015.

78. MONTELEONE, P. et al. Enhanced ghrelin secretion in the cephalic phase of food ingestion in women with bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, England, v. 35, n. 2, p. 284-8, 2010. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.07.001 >. Acesso em 16 jul. 2015.

79. TANAKA, M. et al. Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. *European Journal of Endocrinology*, v. 146, n. 6, p. R1-3, Jun 2002. ISSN 0804-4643. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12039712 >. Acesso em 16 jul. 2015.

80. KOJIMA, S. et al. Altered ghrelin and peptide YY responses to meals in bulimia nervosa. *Clinical Endocrinology*, England, v. 62, n. 1, p. 74-8, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2265.2004.02176.x >. Acesso em 16 jul. 2015.

81. NAKAZATO, M. et al. No changes in serum ghrelin levels in female patients with bulimia nervosa. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, England, v. 28, n. 7, p. 1181-4, 2004. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.06.012 >. Acesso em 16 jul. 2015.

82. MONTELEONE, P. et al. Investigation of peptide YY and ghrelin responses to a test meal in bulimia nervosa. *Biological Psychiatry*, United States, v. 57, n. 8, p. 926-31, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.01.004 >. Acesso em 16 jul. 2015.

83. _____. Circulating ghrelin is decreased in non-obese and obese women with binge eating disorder as well as in obese non-binge eating women, but not in patients with bulimia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, England, v. 30, n. 3, p. 243-50, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.07.004 >. Acesso em 16 jul. 2015.

84. GELIEBTER, A.; GLUCK, M. E.; HASHIM, S. A. Plasma ghrelin concentrations are lower in binge-eating disorder. *The Journal of Nutrition*, United States, v. 135, n. 5, p. 1326-30, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 28 jul. 2015.

85. PRINCE, A. C. et al. Systematic review and meta-analysis of the baseline concentrations and physiologic responses of gut hormones to food in eating disorders. *The American Journal of Clinical Nutrition*, United States, v. 89, n. 3, p. 755-65, 2009. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.2008.27056 >. Acesso em 28 jul. 2015.

86. LIU, B.; GARCIA, E. A.; KORBONITS, M. Genetic studies on the ghrelin, growth hormone secretagogue receptor (GHSR) and ghrelin O-acyl transferase (GOAT) genes. *Peptides*, United States, v. 32, n. 11, p. 2191-207, 2011. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2011.09.006 >. Acesso em 28 jul. 2015.

87. MONTELEONE, P. et al. Ghrelin and leptin responses to food ingestion in bulimia nervosa: implications for binge-eating and compensatory behaviours. *Psychological Medicine*, v. 33, n. 8, p. 1387-94, Nov 2003. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 28 jul. 2015.

88. THE NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. Bethesda (MD), 1992. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ >. Acesso em: Abr 2015.

89. SEIM, I. et al. Revised genomic structure of the human ghrelin gene and identification of novel exons, alternative splice variants and natural antisense transcripts. BMC *Genomics*, England, v. 8, p. 298, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-8-298 >.

90. CELLINI, E. et al. Case-control and combined family trios analysis of three polymorphisms in the ghrelin gene in European patients with anorexia and bulimia nervosa. *Psychiatric Genetics*, England, v. 16, n. 2, p. 51-2, 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1097/01.ypg.0000194444.89436.e9 >. Acesso em 28 jul. 2015.

91. ZHANG, J. V. et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, United States, v. 310, n. 5750, p. 996-9, 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1126/science.1117255 >. Acesso em 07 ago. 2015.

92. MCKEE, K. K. et al. Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Molecular Endocrinology*, v. 11, n. 4, p. 415-23, Apr 1997. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/mend.11.4.9908 >. Acesso em 07 ago. 2015.

93. LEUNG, P. K. et al. The truncated ghrelin receptor polypeptide (GHS-R1b) acts as a dominant-negative mutant of the ghrelin receptor. *Cellular Signalling*, England, v. 19, n. 5, p. 1011-22, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2006.11.011 >. Acesso em 07 ago. 2015.

94. GOMEZ, R. et al. Expression and modulation of ghrelin O-acyltransferase in cultured chondrocytes. *Arthritis and Rheumatism*, v. 60, n. 6, p. 1704-9, 2009. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/art.24522 >. Acesso em 25 ago. 2015.

95. GUTIERREZ, J. A. et al. Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. *Proc Natl Acad Sci USA*, United States, v. 105, n. 17, p. 6320-5, 2008. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0800708105 >. Acesso em 25 ago. 2015.

96. SNUSTAD, D. P.; SIMMONS, M. J. *Fundamentos da Genética.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

97. FENECH, M. et al. Nutrigenetics and nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics*, Switzerland, v. 4, n. 2, p. 69-89, 2011. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1159/000327772 >. Acesso em 25 ago. 2015.

98. UKKOLA, O. et al. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 86, n. 8, p. 3996-9, Aug 2001. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1210/jcem.86.8.7914 >. Acesso em 25 ago. 2015.

99. MONTELEONE, P. et al. No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene with anorexia nervosa or bulimia nervosa. *Neuroscience Letters*, Ireland, v. 398, n. 3, p. 325-7, 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2006.01.023 >. Acesso em 03 set. 2015.

100. KINDLER, J. et al. No association of the neuropeptide Y (Leu7Pro) and ghrelin gene (Arg51Gln, Leu72Met, Gln90Leu) single nucleotide polymorphisms with eating disorders. *Nordic Journal of Psychiatry*, v. 65, n. 3, p. 203-7, Jun 2011. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.3109/08039488.2010.525258 >. Acesso em 03 set. 2015.

101. ANDO, T. et al. Possible role of preproghrelin gene polymorphisms in susceptibility to bulimia nervosa. American Journal of Medical Genetics Part B: *Neuropsychiatric Genetics*, v. 141B, n. 8, p. 929-34, Dec 5 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.b.30387 >. Acesso em 03 set. 2015.

102. DARDENNES, R. M. et al. Family trios analysis of common polymorphisms in the obestatin/ghrelin, BDNF and AGRP genes in patients with Anorexia nervosa: association with subtype, body-mass index, severity and age of onset. *Psychoneuroendocrinology*, England, v. 32, n. 2, p. 106-13, 2007. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2006.11.003 >. Acesso em 03 set. 2015.

103. MIYASAKA, K. et al. Association of ghrelin receptor gene polymorphism with bulimia nervosa in a Japanese population. *Journal of Neural Transmission*, v. 113, n. 9, p. 1279-85, Sep 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1007/s00702-005-0393-2 >. Acesso em 29 set. 2015.

104. R, T.; C, S. *Biology The Unity and Diversity of Life: Mutated Genes and Their Protein Products.* Thompson Brooks Cole, 2006.

105. WEISS, K. M.; CLARK, A. G. Linkage disequilibrium and the mapping of complex human traits. *Trends Genet*, v. 18, n. 1, p. 19-24, Jan 2002. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 29 set. 2015.

106. MULLER, T. D. et al. Genetic variation of the ghrelin activator gene ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is associated with anorexia nervosa. *J Psychiatr Res*, England, v. 45, n. 5, p. 706-11, 2011. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1016/j.jpsychires.2010.10.001 >. Acesso em 05 out. 2015.

107. BERKMAN, N. D. et al. Management of eating disorders. *Evidence Report Technology Assessment*, n. 135, p. 1-166, Apr 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 29 set. 2015.

108. FABBRI, A. et al. Ghrelin and eating disorders. *Archives of Clinical Psychiatry*, 2: 53-63 p. 2015. Acesso em 08 out. 2015.

109. BIGHETTI F. Tradução e validação do Eating Attitudes Test em adolescentes do sexo feminino de Ribeirao Preto-SP. *Journal Brasileiro de Psiquiatria*, v. 53, p. 339-46, 2004. Acesso em 08 out. 2015.

110. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global Database on Body Mass Index*. Geneva, 2006. Disponível em: < http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html >. Acesso em 08 out. 2015.

111. MINTZ, L. B.; O'HALLORAN, M. S. The Eating Attitudes Test: validation with DSM-IV eating disorder criteria. *Journal of Personality Assessment*, v. 74, n. 3, p. 489-503, Jun 2000 Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1207/s15327752jpa7403_11 >. Acesso em 19 out. 2015.

112. GARNER, D. M. et al. The eating attitudes test: psychometric features and clinical correlates. *Psychological Medicine*, v. 12, n. 4, p. 871-8, Nov 1982 Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 19 out. 2015.

113. LOHMAN, T.; ROCHE, A.; MARTORELL, R. *Anthropometric standardization reference manual*: Abridged edition. Champaign: Human Kinetics Books, 1991.

114. CORRÊA-GIANELLA, M. et al. *Fundamentos teóricos e práticos da biologia molecular aplicada à endocrinologia* (Apostila). Laboratório de endocrinologia celular e molecular LIM-25, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

115. ROSELINO, A. M. Molecular biology in tropical dermatoses. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 83, n. 3, p. 187-203, 06/2008 2008. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0365-05962008000300002&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >. Acesso em 26 out. 2015.

116. LAITINEN, J.; SAMARUT, J.; HOLTTA, E. A nontoxic and versatile protein salting-out method for isolation of DNA. *Biotechniques*, v. 17, n. 2, p. 316, 318, 320-2, Aug 1994. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 26 out. 2015.

117. ALBERTS, B. et al. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, 2002. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ >. Acesso em 26 out. 2015.

118. BULIK, C. M. et al. Prevalence, heritability, and prospective risk factors for anorexia nervosa. *Arch Gen Psychiatry*, v. 63, n. 3, p. 305-12, Mar 2006. Disponível em: < http://dx.doi.org/10.1001/archpsyc.63.3.305 >. Acesso em 26 out. 2015.

119. BAESSLER, A. et al. Genetic linkage and association of the growth hormone secretagogue receptor (ghrelin receptor) gene in human obesity. *Diabetes*, v. 54, n. 1, p. 259-67, Jan 2005. Disponível em: < http://dx.doi.org/ >. Acesso em 03 nov. 2015.

120. ECKLEY, D. M. et al. Analysis of Dynactin Subcomplexes Reveals a Novel Actin-Related Protein Associated with the Arp1 Minifilament Pointed End. I*n: J Cell Biol*, v.147, 1999. p. 307-20.

APÊNDICES

APÊNDICE A – ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA PUBLICADO NA REVISTA *ARCHIVES OF CLINICAL PSYCHIATRY* EM SUA 42ª EDIÇÃO 2º VOLUME.

Review article

Ghrelin and eating disorders

ALESSANDRA DONZELLI FABBRI[1], SOPHIE DERAM[1], DANIEL SHIKANAI KERR[2], TÁKI ATHANÁSSIOS CORDÁS[3]

[1] Eating Disorders Program (Ambulim) at the Institute of Psychiatry, of the Hospital das Clínicas of the School of Medicine of University of Sao Paulo (IPq-HC-FMUSP), Sao Paulo, SP, Brazil.
[2] Laboratory of Neuroscience (LIM-27), Department and Institute of Psychiatry of the FMUSP, Sao Paulo, SP, Brazil.
[3] IPq-HC-FMUSP, Sao Paulo, SP, Brazil.

Received: 2/11/2015 – **Accepted:** 3/4/2015
DOI: 10.1590/0101-60830000000048

Abstract

Background: Ghrelin is a potent hormone with central and peripheral action. This hormone plays an important role in the regulation of appetite, food intake, and energy balance. Studies have suggested that ghrelin is involved with eating disorders (ED), particularly bingeing and purging. Genetic variants have also been studied to explain changes in eating behavior. **Methods:** We conducted a literature review; we searched PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO), and LILACS databases using the keywords "eating disorder", "ghrelin", "polymorphism", "anorexia nervosa", "bulimia nervosa", "binge eating disorder", and their combinations. We found 319 articles. Thirty-nine articles met the inclusion criteria. **Results:** High levels of ghrelin were found in patients with anorexia nervosa (AN), especially in the purging subtype (AN-P). There was also a positive correlation between fasting ghrelin level and frequency of episodes of bingeing/purging in bulimia nervosa (BN) and the frequency of bingeing in periodic binge eating disorder (BED). Some polymorphisms were associated with AN and BN. **Conclusion:** Changes in ghrelin levels and its polymorphism may be involved in the pathogenesis of EDs; however, further studies should be conducted to clarify the associations.

Fabbri AD et al. / Arch Clin Psychiatry. 2015;42(2):53-63

Keywords: Eating disorders, ghrelin, ghrelin receptors, single nucleotide polymorphism, genetics.

Introduction

Eating disorders (ED) are characterized by severe changes in eating behavior[1-3]. Anorexia nervosa (AN), bulimia nervosa (BN) and binge eating disorder (BED) are EDs known for their high morbidity and mortality affecting mostly adolescents and young adult females and can lead to major biological, psychological and social complications[4-7]. AN is characterized by intense fear of weight gain, severe food restriction, low body weight and a distorted perception of the body image. BN is characterized by episodes of binge eating (uncontrolled consumption of a large amount of food in a short period of time) followed by inappropriate compensatory behaviors aimed at preventing weight gain (such as: self-induced vomiting, abuse of laxatives, diuretics, amphetamines and/or excessive physical activity), these episodes must occur at least once per week for three months. Finally, BED is characterized by episodes of binge eating as described previously but without the use of compensatory methods, as frequently quoted in BN[7,8].

Studies indicate a prevalence of ED ranging from 0.4% to 1.6%, with the highest frequency found in young women (between 18 and 32 years old)[7,9]. In Brazil, there is still a scarce number of epidemiological studies involving ED, even if the number of these studies has increased in recent years[8].

The etiology of an ED is complex and although widely studied, is still poorly understood. It is believed that the disease is multifactorial with a complex interaction of several factors: biological, psychological, sociocultural and family-related which are responsible for initiating and maintaining ED[8-11]. There is substantial evidence that genetic factors have up to an 80% stake in the etiology of AN[12], however, little is known about the molecular mechanism of these cases[13].

Most genetic studies on ED are focused on the investigation of candidate genes. Several genes that play an important role in appetite regulation and satiety are considered candidates and may be related to the development of ED[14-18], but the results of these studies are still inconsistent[19,20].

One of the major hormones involved in the regulation of food intake is ghrelin. Although there are many neuropeptides that stimulate food intake, ghrelin is the most established orexigenic peptide known until now[21].

Methods

We conducted a literature review to human studies in PubMed, Scientific Electronic Library Online (SciELO) and Lilacs databases, published between January 2000 and December 2014. The main keywords were used: "eating disorder" and "ghrelin", and filtered the results to the terms: "anorexia nervosa", "bulimia nervosa", "binge eating disorder", "polymorphism" and their combinations. The inclusion criteria were: 1) articles in English, Portuguese and Spanish; 2) articles that fully approached the topic ghrelin, eating disorders and their possible biological/genetic changes; 3) only studies in patients with diagnoses AN, BN and BED.

Three hundred and nineteen articles were found and only 39 contemplated these criteria (5 review articles, meta-analysis 1 and 33 experimental articles). Review articles and meta-analysis on the subject were consulted and cited in the discussion of this review, but for the presentation of data only original articles were used. We excluded studies in other languages and case reports as well, as articles that exclusively broached the topic obesity and ghrelin.

Results

The synthesis of these studies is presented in tables 1 and 2, sorted by month and year of publication. All data were taken from the original articles. To facilitate comparison we standardized the display of age and BMI and consider only one house after the comma without rounding.

Ghrelin and the regulation of appetite

The arcuate nucleus (ARC) of the hypothalmus and the brain stem are important regions involved in the regulation of appetite, body weight and energy balance[22]. The variety of hypothalamic appetite regulators are divided into two groups: The orexigenic types (appetite stimulators) which include the neuropeptide Y (NPY), the agouti-related peptide (AgRP), ghrelin, orexin and cannabinoids, while the anorectics (appetite suppressants) which include pro-opiomelanocortin (POMC), and cocaine and amphetamine regulated transcript (CART), thyrotropin releasing hormone (TRH), cortico-

Address correspondence to: Alessandra Donzelli Fabbri. Rua Ovídio Pires de Campos, 785, 1º andar, sala 8 – 05403-010 – São Paulo, SP, Brazil. Email: ale.fabbri@usp.br

tropin releasing hormone (CRH), peptide YY (PYY), cholecystokinin (CCK) and glucagon-like-peptide (GLP 1), among other[19].

Ghrelin is a peptide of 28 amino acids, synthesized mainly by the oxyntic glands of the stomach[20]. It is acylated in the third residue which is a serine, the introduction of fatty acid (n-octanoyl) is essential for its activity[20].

It is one of the major signaling mechanisms for the start of the meal[20]. In humans, its concentration stays high during periods of fasting and periods that precede meals, falling soon after the start of food intake[21,22].

It is also involved in stimulating the secretion of growth hormone (GH) via the endogenous ligand of the GH secretagogue receptor (GHS-R)[23]. There are two subtypes of receptors, GHS-R1a, which is active, and GHS-R1b, a smaller isoform, which apparently has no biological activity[23]. This receptor (GHS-R) is present in various tissues including the anterior hypophysis and the hypothalamus, and in other areas of the brain, such as the hippocampus and gray matter. Because of its location, it has been suggested that GHS-R can modulate biological rhythms, mood, memory, learning and appetite[24].

Ghrelin is an orexigenic hormone that acts on the Central Nervous System (CNS) by activating the NPY/AgRP[25] neurons in the ARC via the GHS-R receptor. Thus, it promotes the production and secretion of other orexigenic neuropeptides that suppress neuronal activity of the POMC/CART, while stimulating food intake[26], this hormone undergoes a process of acetylation required to bypass the blood-brain barrier, making it suitable to connect to the GHS-R1a[24]. This acetylation converts the desacyl ghrelin (inactive form) into acyl ghrelin (active form)[20] and is catalyzed by the enzyme ghrelin O-acyltransferase (GOAT)[20] (Figure 1).

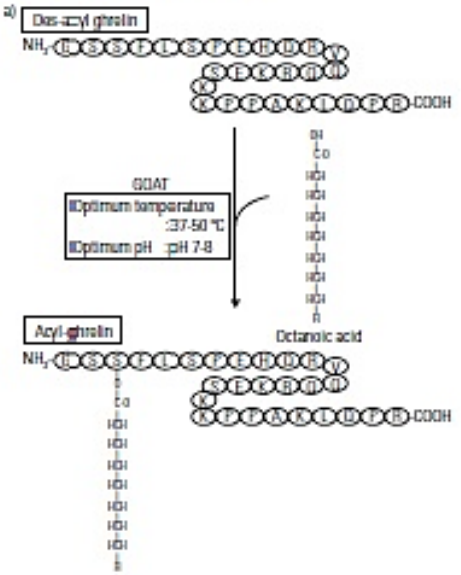


Figure 1. Ghrelin in its non-active form (desacyl ghrelin) being transformed into its active form (acyl ghrelin) by the enzyme ghrelin O-acyltransferase (GOAT). Adapted from Sato et al. 2012[20].

Ghrelin in EDs

The role of ghrelin has been extensively investigated in the etiology of obesity and contrary to what was expected, plasma levels seem to have an inverse correlation with the body mass index (BMI)[20,28]. Studies have shown that ghrelin levels are lower in obese subjects as compared to control subjects[28,29]. One study noted that the decrease in ghrelin after the meal was lower in obese individuals compared to normal weight individuals[30], and can thereby maintain the feeling of hunger. Studies with obese children also found low plasma ghrelin levels[31,32] and when these children have reduced 50% of their BMI, ghrelin levels remained lower in comparison to control subjects[31]. The same finding was observed in obese adults who normalized their BMI[33,34].

Studies conducted with AN patients found high levels of ghrelin in the plasma of these patients when compared with control of normal-weight individuals[35,36,37] which may suggest that this change may be an adaptive response to prolonged starvation[38]. Tolle et al. compared the levels of ghrelin plasma in 3 groups: healthy women considered thin (CT), who had a BMI similar to women with AN; patients with AN and women with normal weight (NW)[39]. It was demonstrated that ghrelin plasma concentrations in fasting patients with AN, was increased and remained high throughout the day (measured every 4 hours over a period of 24 hours) as compared to CT and NW. The study noted that these levels normalized after the patient gained the weight back, suggesting that in addition to body weight, levels of ghrelin may also be affected by the nutritional state[39]. Body fat instead of BMI has best explained the changes in the levels of ghrelin[40], some of the groups that had contradictory results between the correlation of BMI and ghrelin showed consistent results for body fat[39,40,41,42]. Studies have shown that ghrelin levels in patients with AN Restrictive (AN-R) have not been fully standardized, even after treatment[43,44].

Differences in ghrelin levels between subtypes of AN have also been reported. Tanaka et al. in 2003 found higher plasma levels of ghrelin in patients with AN Purging (AN-P) than in AN-R[45,46]. In 2004, the group of Tanaka replicated their findings in a later study which included a third subgroup of AN, a subgroup that required emergency hospitalization; in this group the patients were unable to eat and had an extreme loss of weight.. It showed that the emergency group had higher plasma levels of ghrelin than AN-P, and that AN-P still had levels greater than the AN-R levels. The three groups experienced a decrease in their plasma levels of ghrelin after treatment, but patients with AN-P still kept the plasma levels of ghrelin higher than the control group at the end of rehabilitation[46]. In 2005 Troisi et al., found higher levels of ghrelin during fasting in AN-R patients when compared to the AN-P patients[47]. However, the Troisi group compared data between patients with AN-P and BN, which probably had a higher BMI, which may explain the difference between the results of the two studies. There seems to be a relationship between ghrelin concentrations and patients with the compulsive/purging subtype for both AN (AN-P) and for BN[48,49]. However, this finding has still not reached a consensus, Monteleone et al. 2008[50] found no significant difference in the concentration of plasma ghrelin when fasting in groups with AN-R and AN-P. One explanation for these conflicting results is the method used to measure ghrelin and how it was performed, the preference for using plasma or serum can affect the levels obtained in different studies. The Monteleone study has confirmed this hypothesis; the study in 2008 obtained the result by screening for ghrelin plasma by way of the ELISA method (enzyme-linked immunosorbent assay). Whereas in 2010[51], in order to study patients with BN, they used the same test used by the group of Tanaka in 2003: the RIA (Radioimmunoassay) method and observed similar results, higher levels of ghrelin in these patients as compared to controls.

Tanaka et al. 2002[46] and Kojima et al. 2005[52], also observed elevated levels of fasting ghrelin in patients with BN. In addition, Tanaka in 2002 noted that ghrelin levels were negatively correlated with BMI and body fat percentage in both BN, as in the control group[46]. On the other hand, Nakazato et al. in 2004 found no significant difference between the levels of ghrelin plasma in patients with BN and the control group[53]. One possible explanation for this would be that Nakazato et al. 2004 measured ghrelin levels in the serum randomly

between 11:00 am-12: 00 pm (postprandially), unlike Tanaka *et al.* 2002 who measured when fasting. When Kojima in 2005 measured the pre-and postprandial ghrelin, it was noted that the decrease in postprandial ghrelin was significantly attenuated in women with BN compared to the control group[illegible], generating a possible delay in the reduction of the hunger sensation in these patients.

Patients with BED tend to show a decrease in ghrelin when fasting[illegible] and a lower postprandial decline compared to the obese control group[illegible]. This decrease in ghrelin does not seem to reduce the propensity to gain weight in BED patients. Low ghrelin levels were also found in obese patients and seem to be more related to a sub-regulation of the release of ghrelin in response to excess weight and a lower postprandial decline, possibly acting to maintain the hunger[illegible].

A meta-analysis in 2009 found plasma concentrations in fasting and postprandial appetite hormones (gut hormones) in patients with AN, BN subtypes. It observed that in 8 studies analyzed, seven found elevated levels of plasma ghrelin in all diagnoses, with the exception of a single study[illegible].

In conclusion, the studies suggest that the changes found in ghrelin may be more related to the behavior of the binging and purging[illegible]. However, for the time being, it is still not clear as per whether ghrelin fundamentally participates as an important factor in the etiology of the EDs[illegible].

Ghrelin and the genes

The human ghrelin gene (GHLR, Gene ID: 51738)[illegible] which encodes ghrelin is located in the short arm of the chromosome 3 (3p25-26)[illegible]. Initially it was thought that it would have 4 exons (coding part of the gene), but subsequent studies have identified a number of additional exons in humans[illegible]. The precursor to ghrelin, the pre-proghrelin, is formed in the post-transcriptional process of GHLR, it consists of 518 pb encoded in a sequence of 117 amino acids, distributed over 23 amino acids of the signal peptide and 94 amino acids of pro-ghrelin, which include 28 amino acids of the mature ghrelin and over 66 additional amino acids[illegible], which include 23 of obestatin (a hormone with the antagonistic characteristics of ghrelin, which suppresses appetite and stomach activity)[illegible]. Therefore, ghrelin and obestatin are encoded by the same precursor gene (Figure 2).

The gene of the receptor (GHS-R, Gene ID: 2693)[illegible] was also located in the chromosome 3 (3q-26-31)[illegible]. The gene consists of two exons separated by one intron (non-coding part of the gene) (Figure 3). The exon 1 encodes the I-V transmembrane regions and exon 2 encodes the regions VI and VII[illegible]. The GHS-R gene encodes two types of mRNA: GHS-R1a and GHS-R1b[illegible]. The GHS-R 1a contains all 7 transmembrane regions and possess a high affinity with ghrelin, while the physiological role of GHS-R1b is not yet entirely clear[illegible].

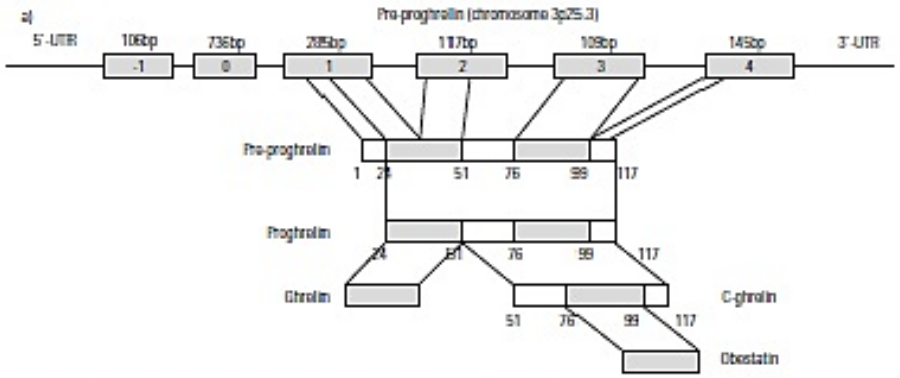


Figure 2. The human ghrelin chromosome (GHLR), also called the pro-proghrelin chromosome and its products. The green boxes represent the exons, while the numbers at the bottom represent the amino acids. Adapted from Liu *et al.* 2011[illegible].

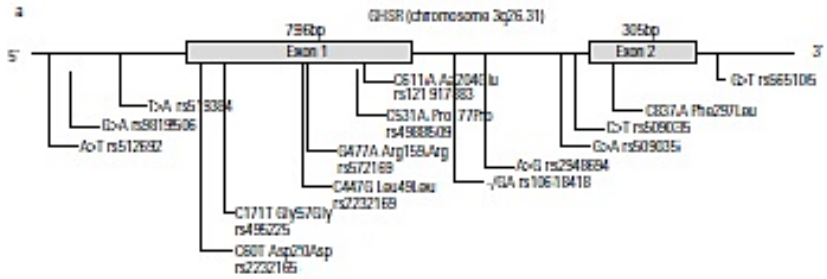


Figure 3. Chromosome of the GH secretagogue receptor (GHS-R) and single nucleotide polymorphisms (SNPs) that are most researched in this chromosome, accompanied by their identification numbers. Adapted from Liu *et al.* 2011[illegible].

The gene of GOAT (MBOAT4; Gene ID: 619373)[21] is located in the chromosome 8 (8p12) and is expressed mainly in the stomach, in the pancreas and in lower concentrations in the bones[22,23]. This gene represents a new candidate gene in genetic research for investigating complex phenotypes[24] (Figure 4).

In table 2 below, you can see some studies that investigated single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the ghrelin gene, in individuals with a diagnosis of an ED. It is noticeable that the studies were still inconclusive when the GHRL gene is investigated, these studies show different positive and negative associations with different EDs diagnoses[25,26,27,28,29,30]. However, when they analyzed the genes of the GHS-R and of the GOAT some studies have found a positive association between polymorphisms and the EDs[31]. In this sense, only two studies have found a positive association between polymorphisms in the GHS-R and in the GOAT with BN and AN respectively, which is that of Miyasaka *et al.* 2006[32] and Muller *et al.* 2010[33].

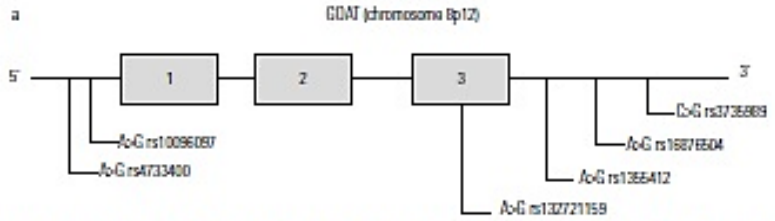


Figure 4. Chromosome of the enzyme ghrelin O-acyltransferase (GOAT) and single nucleotide polymorphisms (SNPs) that are most researched in this chromosome, accompanied by their identification numbers. Adapted from Liu *et al.* 2011[34].

Table 1. Studies of ghrelin plasma in different EDs diagnoses, ordered by month and year of publication

Authors and year	Diagnoses studied	Hypotheses/ Objectives	Sample	Age years (mean ± SD)	BMI kg/ score (mean ± SD)	Measurement ghrelin	Collection of the blood sample	Main analyses used statistics	Results
Ariyasu *et al.* 2001[35]	AN and BP	To estimate the plasma ghrelin in humans, ghrelin -LI fasting and after the meals	N			RIA	Overnight fasting plasma	Student's t-test, linear regression analysis	The concentration of ghrelin was higher in AN, found a negative correlation between ghrelin levels and BMI compared to female CD
			33 BP	68,0 ± 4,0	23,3 ± 2,8				
			31 AN	25,0 ± 1,0	DNS				
			Control Group						
			61 CD (35 female)	26,0 ± 1,0 (DNS female)	20,7 ± 0,3 (20,4 ± 0,4 female)				
Otto *et al.* 2001[36]	AN	Investigate the involvement of ghrelin in the pathogenesis of EDs, analyze circulating levels of ghrelin and its possible correlations with clinical parameters before and after weight gain	N			RIA	Overnight fasting plasma	DNS	The concentration of plasma ghrelin was higher in AN, after partial improvement, there was a decrease in circulating ghrelin (25%). Negative correlation with Delta BMI
			36 AN	25,0 ± 1,2	15,2 ± 0,2				
			Control Group						
			24 CD	31,0 ± 1,4	22,3 ± 0,4				
Shiiya *et al.* 2002[37]	OB, AN and DM2	Research on ghrelin in metabolic balance, measurement of plasma ghrelin responses in plasma ghrelin in CD and DM2 and investigation of 24 hours of circulating ghrelin profile	N			RIA	Fasting plasma and postprandial (0, 3, 5, 10, 15, 30, 60 and 120 min)	ANOVA, post hoc Fisher's test, linear regression analysis	The concentration of plasma ghrelin was high in the AN, and low in BN, it was negatively correlated with BMI
			17 AN	22,2 ± 2,3	14,2 ± 0,5				
			11 OB	35,1 ± 3,7	30,4 ± 1,2				
			42 DM2	58,5 ± 1,6	DNS				
			Control Group						
			28 CD	30,4 ± 4,1	22,7 ± 0,4				
Tanaka *et al.* 2002[38]	BN	Concentration of plasma ghrelin fasting will be increased in the BN or show some specificity regarding the pathology	N			RIA	Overnight fasting plasma	Student's t-test, linear regression analysis	The concentration of ghrelin was greater in BN. Ghrelin fasting was negatively correlated with BMI and% body fat
			15 BN	23,3 ± 5,3	20,0 ± 2,9				
			Control Group						
			11 CD	24,0 ± 1,9	21,1 ± 1,2				

continuation

Authors and year	Diagnoses studied	Hypothesis/ Objectives	Sample	Age years (mean ± SD)	BMI kg/ score (mean ± SD)	Measurement ghrelin	Collection of the blood sample	Main analyses used statistics	Results
Tolle et al. 2003[a]	AN	Measuring plasma levels of ghrelin in the AN before and after renutrition in women CT and CO	N			RIA	Fasting plasma and postprandial (hours: 800, 1200, 1600, 2000, 2400 and 400 h)	ANOVA, t-test	High plasma levels of ghrelin in the AN, which remained high throughout the day and decreased after renutrition. The CT group had intermediate levels of ghrelin
			9 AN	17,2 ± 0,9	14,6 ± 0,4				
			7 CT	23,3 ± 3,1	15,7 ± 0,4				
			Control Group						
			10 CO	23,2 ± 1,1	21,5 ± 0,7				
Tanaka et al. 2003a[b]	AN BN	The presence and frequency of purging behaviors can influence the levels of ghrelin	N			RIA	Overnight fasting plasma	Linear regression analysis, ANOVA, post-hoc Fisher's test	Mean plasma ghrelin was higher in the AN-R, AN-P and BN-P, was significantly higher in AN-P than AN-R. Ghrelin fasting was negatively correlated with BMI and % body fat
			21 AN-R	21,8 ± 8,9	13,9 ± 1,9				
			19 AN-P	24,6 ± 5,5	14,4 ± 2,1				
			18 BN-P	22,7 ± 5,0	20,0 ± 2,1				
			13 BN-NP	22,7 ± 6,5	21,2 ± 3,9				
			Control Group						
			15 CO	22,1 ± 3,4	21,4 ± 11,0				
Nedvidkova et al. 2003[c]	AN	Study the response of plasma ghrelin, to food intake, meal volume and nutritional value	N			RIA	Fasting plasma and postprandial (30, 60, 90, 120 min)	Unpaired t-test, Mann-Whitney rank Test, correlations Spearman's, ANOVA, Dunnet's test	The concentration of plasma ghrelin was two times higher in the AN, and was negatively correlated with % body fat. There was no change in the concentration of ghrelin in the AN after 2 h meal
			5 AN	24,3 ± 2,6	15,2 ± 1,5				
			Control Group						
			6 CO	22,9 ± 4,7	21,6 ± 1,2				
Tanaka et al. 2003b[d]	AN	Measure plasma concentrations of ghrelin between subtypes of AN	N			RIA	Overnight fasting plasma	Linear regression analysis, ANOVA, post-hoc Scheffe's test	The plasma levels of ghrelin were higher in AN-R and AN-P. Ghrelin was even higher in the AN-P as compared to the AN-R. Ghrelin fasting was negatively correlated with BMI in AN
			19 AN-R	20,1 ± 4,9	13,6 ± 1,5				
			20 AN-P	21,9 ± 4,7	13,7 ± 1,9				
			Control Group						
			11 CO	21,0 ± 1,9	21,4 ± 1,2				
Monteleone et al. 2003[e]	BN	Study of ghrelin and leptin responses meals in BN and CO	N			RIA	Fasting plasma and postprandial (0, 45, 60, 90, 120 and 180 min)	ANOVA, 2-way ANOVA with repeated measures a post-hoc Tukey's, correlation Pearson's	Found no difference between groups in fasting ghrelin. Noted that the postprandial ghrelin remained increased in the BN (90, 120 and 180 min). Ghrelin fasting was negatively correlated with body fat
			9 BN-P	24,2 ± 2,3	21,7 ± 3,4				
			Control Group						
			12 CO	24,5 ± 2,6	21,5 ± 1,8				
Tanaka et al. 2003c[f]	AN	The differences in eating behavior can influence the secretion of ghrelin and insulin in AN	N			RIA	Fasting plasma and postprandial (0, 30, 60, 120 and 180 min)	ANOVA, post-hoc Scheffe's test, Kraskal–Wallis, chi-square statistic	The baseline ghrelin in AN–R and AN-P was significantly higher compared with CO. In the AN-P was found delayed recovery levels of ghrelin postprandially (120 and 180 min)
			11 AN-R	18,5 ± 1,4	13,3 ± 0,4				
			9 AN-P	20,9 ± 1,4	13,8 ± 0,5				
			Control Group						
			10 CO	21,0 ± 0,6	21,4 ± 0,4				

continuation

Authors and year	Diagnoses studied	Hypotheses/ Objectives	Sample	Age years (mean ± SD)	BMI kg/ score (mean ± SD)	Measurement ghrelin	Collection of the blood sample	Main analyzes used statistics	Results
Soriano-Guillén *et al.* 2004[41]	OBCH, AD and AN	To investigate the role of ghrelin in the EDS analysis of baseline ghrelin level in OBCH and AN and the weight loss effect	N			RIA	Overnight fasting plasma	Student's t test, ANOVA with repeated measures, post-hoc Scheffé's test, correlation analysis	Ghrelin levels were decreased in OBCH and not normalized after weight reduction. Also found increased levels in AN
			25 OBCH	8,0 ± 1,3	SD 4,4 ± 1,8				
			16 AN	17,0 ± 1,6	SD -2,2 ± 0,4				
			Control Group						
			21 CH	6,3 ± 3,0	SD 0,1 ± 1,0				
			20 AD	17,2 ± 0,4	SD 0,3 ± 0,8				
Misra *et al.* 2004[42]	AN	Ghrelin values may be higher in AN than in healthy adolescents	N			RIA	Overnight fasting plasma	Student's t-test, Wilcoxon's test, chi-square statistic	Ghrelin levels were higher and decreased postprandially ghrelin was also high in AN-R
			19 AN-R	16,1 ± 1,1	16,9 ± 1,6				
			Control Group						
			20 CO	15,4 ± 1,8	21,8 ± 3,7				
Nakazato *et al.* 2004[43]	BN	Determination of serum ghrelin levels and compare with the BDNF reported in a previous article	N			EIA	Postprandial (11:00-12:00 am)	Student's t-test, Mann-Whitney, correlation Pearson's	There was no significant correlation between the levels of ghrelin and BDNF
			18 BN (BN-P e BN- NP)	21,6 ± 4,0	20,4 ± 2,1				
			Control Group						
			21 CO	21,4 ± 1,7	20,0 ± 1,5				
Tanaka *et al.* 2004[44]	AN	Measuring ghrelin and GH in AN during treatment to evaluate the effect of nutritional rehabilitation of these substances in	N			RIA	Fasting plasma	Linear regression analysis, ANOVA, post-hoc Sheffés, Kruskal-Wallis, chi-square statistic	The fasting ghrelin was found too high in AN -E group, and the high in AN-P and AN-R before treatment. It remained high in AN-R during the treatment and after the treatment it maintained high only in the AN-P group. The concentration of ghrelin was negatively correlated with BMI before and during treatment
			7 AN-E	18,1 ± 1,2	11,1 ± 0,3				
			14 AN-R	18,4 ± 1,3	13,1 ± 0,2				
			13 AN-P	25,0 ± 1,3	14,5 ± 0,3				
			Control Group						
			9 CO	21,5 ± 0,9	21,5 ± 0,4				
Kojima *et al.* 2005[45]	BN	To investigate the changes in plasma ghrelin and PYY postprandial after the meal in the BN and CO	N			RIA	Overnight fasting plasma and postprandial (0, 30, 60, 120 and 180 min)	Student's t-test, ANOVA with repeated measures, correlation Pearson's	Concentration of plasma ghrelin was high in the BN and remained high after the meal
			10 BN-P	24,7 ± 1,5	20,0 ± 0,6				
			Control Group						
			12 CO	24,8 ± 0,8	20,2 ± 0,5				
Montalcone *et al.* 2005[46]	BN, BED and OB	To investigate the changes of plasma ghrelin in EDs	N			RIA	Overnight fasting plasma	Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, correlations Spearman's	Plasma ghrelin reduced in BED and OB, but found no changes in BN. Ghrelin was negatively correlated with body weight, BMI and body fat in all sample
			13 BED NO	26,9 ± 8,0	25,8 ± 2,5				
			34 BED OB	33,6 ± 9,1	39,8 ± 4,9				
			56 BN-P	23,4 ± 4,3	21,9 ± 3,8				
			Control Group						
			28 OB	38,4 ± 14,1	38,1 ± 6,3				
			51 CO	22,6 ± 3,1	21,7 ± 2,3				
Montalcone *et al.* 2005[47]	BN	Investigate the total PYY and ghrelin responses after a high fat meal in BN and CO	N			RIA	Fasting plasma and postprandial (0, 45, 60, 90, 120 and 180 min)	ANOVA, 2-way ANOVA with repeated measures, post hoc Turkey, multiple regression analysis	There was no difference in the concentration of ghrelin fasting. The postprandial ghrelin remained higher in BN
			9 BN-P	24,5 ± 2,6	21,5 ± 1,8				
			Control Group						
			10 CO	24,2 ± 3,9	21,7 ± 3,4				

continuation

Authors and year	Diagnoses studied	Hypotheses/ Objectives	Sample	Age years (mean ± SD)	BMI kg/ score (mean ± SD)	Measurement ghrelin	Collection of the blood sample	Main analyses used statistics	Results
Stock et al. 2005[20]	AN and OB	PYY may be higher in AN and the response of PYY, ghrelin, GIP and satiety to mixed meals can be impaired in AN and obesity	N			RIA	Fasting plasma and postprandial (15, 60, 90, 120, 180 and 240 min)	ANOVA, post-hoc Bonferroni, correlation, Wald test, correlation Pearson's	Ghrelin was found lower in obesity, with respect to CO and AN. The response of ghrelin in each group showed a significant difference over time
			10 AN	16,5 ± 0,4	16,3 ± 0,4				
			10 OB	14,2 ± 0,3	34,4 ± 2,0				
			Control Group						
			10 CO	14,8 ± 0,3	20,2 ± 0,4				
Gallobter et al. 2005[21]	BED and SBED	BED patients have higher levels of postprandial ghrelin, as a gastric emptying rate slower and less that the postprandial CCK than CO	N			RIA	Overnight fasting plasma and postprandial (-15, 0, 5, 15, 30, 60, 120 min)	G.M, post-hoc Turkey's	Plasma ghrelin was smaller and had a smaller decline after the meal in the BED compared to CO
			11 BED	29,0 ± 8,4	36,6 ± 6,2				
			14 SBED	28,6 ± 6,7	35,9 ± 5,3				
			Control Group						
			12 OB	33,1 ± 8,7	35,3 ± 5,5				
Otto et al. 2005[22]	AN	To investigate the suppression of postprandial ghrelin in AN during weight gain	N			RIA	Overnight fasting plasma and postprandial (20 and 60 min)	ANOVA of repeated measurement, Wilcoxon test	Increased levels of ghrelin in AN fasting and there was a significant decrease after the weight gain
			20 AN	25,6 ± 1,0	15,1 ± 0,3				
			Control Group						
			6 CO	28,8 ± 1,0	21,1 ± 0,7				
Troisi et al. 2005[23]	AN, BN and BED	To investigate the relationship between plasma ghrelin, cortisol, thyroid hormones and dietary patterns of AN, BN and BED. Analyzing the groups To by the criterion of bingeing and purging	N			RIA	Overnight fasting plasma	ANOVA, Student's t-test, post-hoc Sheffé, Stepwise's regression	High plasma concentrations of ghrelin in the AN, BN and BED were found. EDs concentrations of plasma ghrelin was negatively correlated with BMI. Positive correlation between the concentrations of ghrelin and disordered eating behavior.
			13 AN-R	26,6 ± 6,7	15,0 ± 2,3				
			16 BN (AN-P o BN-P)	29,2 ± 11,4	26,0 ± 7,5				
			21 BED (BN-NP o BED)	38,0 ± 11,9	33,0 ± 7,8				
			Control Group						
			23 CO	25,5 ± 3,2	21,34 ± 1,8				
Janas-Kozik, et al. 2007[24]	AN	To investigate the involvement of the AN dysfunction during treatment of ghrelin	N			RIA	Fasting plasma	Student's t-test and Spearman's correlation	The concentration of ghrelin was high in the AN-R and not fully stabilized after treatment. Negative correlation with total plasma ghrelin and BMI in AN-R after treatment
			30 AN-R	18,0 ± 2,0	15,1 ± 1,4				
			Control Group						
			20 CO	18,5 ± 0,5	21,4 ± 2,1				
Nakahara et al. 2007[25]	AN	Measure ghrelin, PYY3-36, glucose and insulin after a meal to evaluate the effect of nutritional status in AN during hospitalization	N			RIA	Overnight fasting plasma and postprandial (0, 30, 60, 120 and 180 min)	ANOVA and post-hoc Sheffé, 2-way ANOVA with repeated measures	Plasma ghrelin fasting was higher in AN, after treatment decreased but remained higher compared to CO
			14 AN-R	24,6 ± 6,0	12,4 ± 1,7				
			Control Group						
			12 CO	25,7 ± 6,7	22,3 ± 2,2				
Montalcino et al. 2008[26]	AN and BN	Measure circulating levels of ghrelin/obestatin and evaluating its relationship with anthropometric and clinical measures in BN, AN and CO	N			ELISA	Overnight fasting plasma	Shapiro Wilk normality test, ANOVA, Pearson's correlation	The concentration of ghrelin was higher in the AN, regardless of subtype. No difference to the BN was found. The concentration of plasma ghrelin in the AN had a positive correlation with body fat and BMI
			21 AN (AN-R o AN-P)	23,4 ± 7,5	16,6 ± 1,6				
			21 BN	26,2 ± 7,1	21,4 ± 3,3				
			Control Group						
			20 CO	23,6 ± 5,5	21,1 ± 2,2				

continuation

Authors and year	Diagnoses studied	Hypotheses/ Objectives	Sample	Age years (mean ± SD)	BMI kg/ score (mean ± SD)	Measurement ghrelin	Collection of the blood sample	Main analysis used statistics	Results
Montalcini et al. 2010[44]	BN	To investigate the ghrelin response in "misleading" feedback on BN and CO	N			RIA	Fasting plasma and postprandially (0, 15, 30, 45, 90 and 120 min)	ANOVA, 2-way ANOVA with repeated measures and post-hoc Turkey's, Pearson's correlation	In BN ghrelin was high postprandially. The response of ghrelin was positively correlated with the frequency of bingeing and purging weekly and disease duration
			6 BN-P	DNS	DNS				
			Control Group						
			7 CO	DNS	DNS				
Tarna et al. 2013[47]	AN	Studying levels of circulating adipocytokines in AN and CO	N			ELISA	Overnight fasting plasma	Student's t-test, Pearson's correlation, linear regression analysis	There was no difference in the concentration of ghrelin fasting. Negative correlation with BMI and the plasma ghrelin in AN-R after treatment.
			28 AN-R	27,4 ± 1,4	16,8 ± 0,2				
			Control Group						
			33 CO	32,6 ± 1,3	21,8 ± 0,3				

AD: adolescents; AN: anorexia nervosa; AN-E: anorexia nervosa with emergent hospitalization; AN-P: anorexia nervosa purging type; AN-R: anorexia nervosa restrictive type, ANOVA: analysis of variance (one-way); BED: binge eating disorder; BN: bulimia nervosa; BN-P: bulimia nervosa purging type; BN-NP: bulimia nervosa nonpurging type; BNDF: brain-derived neurotrophic factor; BMI: body mass index; CCK: cholecystokinin; CHF: Chilcle; CO: controls; CT: constitutionally thin subjects; DM2: diabetes mellitus type 2; DNS: data had not shown; ED: eating disorder; EIA: enzyme immunoassay; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; GH: growth hormone; Ghrelin-LI: ghrelin-like immunoreactivity; GIP: gastric inhibitory polypeptide; GLM: generalized linear model; GP: gastrectomized patients; NO: non-obese patients; OB: obese patients without eating disorders; OBCH: obese chilcle without eating disorders; PYY: peptide YY; RIA: radioimmunoassay; SD: BMI curves above Spanish standards; SBED: subthreshold binge eating disorder.

Table 2. Studies of candidate genes for polymorphisms in the ghrelin gene (GHRL), the ghrelin O-acyltransferase (GOAT) and the GH secretagogue receptor (GHS-R) in EDs diagnoses

Authors and Year	Diagnoses studied	Hypotheses	Gene	Polymorphisms	N	Control Group	Associations	Conclusion	Country of Study
Collini et al. 2006[51]	AN and BN	To analyze whether polymorphisms of the ghrelin gene which may be involved in the etiology of the EDs.	GHRL	-Gln90Leu, -Leu72Met, -Arg51Gln,	-366 AN -326 BN -529 AN and BN family trios	342 Control Subjects	No association was found	Unlikely that these polymorphisms are related to EDs in the European population	Europe
Ando et al. 2006[52]	AN and BN	Is Ghrelin involved in the etiology of the EDs?	GHRL	-Leu72Met, -3056 T>C (rs2075356)	-131 AN-R -97 AN-P -108 BN	300 Control Subjects	Found in the two polymorphisms for BN	These polymorphisms may be involved in the etiology of ED	Japan
Montalcini et al. 2006[53]	AN and BN	Functional variations in the ghrelin gene may contribute to genetic susceptibility to ED or modulate some aspect of the phenotype of the EDs	GHRL	-Arg51Gln, -Leu72Met	-114 BN -31 AN-R -29 AN-P	119 Control Subjects	No association was found	Suggest that these polymorphisms of ghrelin should not contribute to the genetic vulnerability for AN or BN	Italy
Miyasaka et al. 2009[54]	AN, BN and EDNOS	Investigate a new polymorphism in the GHS-R because the polymorphism in GHRL-Leu72Met was not previously detected in the Japanese population	GHS-R	-rs495225 (171C to T)	-96 AN -116 BN -16 EDNOS	284 Control Subjects	Found for BN	This polymorphism may be a risk factor for BN	Japan
Dardennes et al. 2007[55]	AN	To analyze whether polymorphisms of the ghrelin gene which may be involved in the etiology of the EDs.	GHRL	-Gln90Leu, -Leu72Met,	-114 AN-R and related -90 AN-P and related	Does not exist	Found in the AN-P in the Leu72Met	Genetic analyses with simultaneous genetic-biological determinants may help explain the high degree of heritability and the standard pathophysiological description of the EDs	France

continuation

Authors and Year	Diagnosis studied	Hypothesis	Gene	Polymorphisms	N	Control Group	Associations	Conclusion	Country of Study
Muller et al. 2010[26]	AN	Verify whether genetic variants of GOAT are involved in the etiology of AN	GOAT	-rs1395412, -rs10396057, -rs16876604, -rs3735993, -rs13272159, -rs4733400	-543 AN	612 Control Subjects	AN found in the E/E genotype for the SNP rs10396057	GOAT Genetic variation may be related to the etiology of AN	Germany
Kindler et al. 2011[27]	AN, BN and BED	Genetic factors are likely to contribute to the biological vulnerability to the EDs	GHRL	-Arg51Gln, -Leu72Met, -Gln90Leu	-46 AN -30 BN -38 BED	164 Control Subjects	No association was found	Previous positive associations with polymorphisms of the ghrelin gene could not be replicated	Austria

Conclusion

In recent years, ghrelin has been an object of study in the EDs, but we haven't had any clear conclusions about its role in these pathologies. Genetic research could bring a different perspective and provide a new direction for research.

The studies suggest that some polymorphisms in the ghrelin gene, mainly in the genes of GHS-R and the GOAT, may be involved in the pathogenesis of the EDs and possibly related to the behavior of binge eating and purging. However, this is a case of only two studies, further work should be conducted with larger samples addressing the need to compare the polymorphisms found between the three main types of eating disorders (AN, BN and BED) in order for greater clarity in the associations.

Acknowledgments

We give thanks to Akira Denise Hertzog Silva for the cooperation in this review of the Laboratory of Neurosciences (LIM-27), Department and Institute of Psychiatry of FMUSP, São Paulo, SP.

References

1. American Psychiatry Association (APA). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) (Washington DC): APA Press; 2000.
2. American Psychiatry Association (APA). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-V) (Washington DC): APA Press; 2013.
3. Organização Mundial de Saúde (OMS). Classificação de Transtornos Mentais e do Comportamento da CID-10. Descrições clínicas e diretrizes diagnósticas. Porto Alegre: Artes Médicas; 1993.
4. American Dietetic Association (ADA). Position of the American Dietetic Association: Nutrition intervention in the treatment of anorexia nervosa, bulimia nervosa, and other eating disorders. J Am Diet Assoc. 2006;106(12):2073-82.
5. Cordás TA, Salzano FT. Aspectos gerais dos transtornos alimentares: características, critérios diagnósticos, epidemiologia e etiologia. In: Alvarenga M, Scaglusi FB, Philippi ST. Nutrição e transtornos alimentares: avaliação e tratamento (Barueri): Manole; 2011. p. 5-15.
6. Pinzon V, Nogueira CF. Epidemiologia, curso e evolução dos transtornos alimentares. Rev Psiq Clin. 2004;31(4):158-60.
7. Cordás TA, Claudino AM. Transtornos alimentares: fundamentos históricos. Rev Bras Psiq. 2002;24(3):3-6.
8. do Vale AM, Kerr LR, Bosi ML. Risk behaviors for eating disorders among female adolescents from different social strata in the Brazilian Northeastern. Cien Saude Colet. 2011;16(1):121-32.
9. Morgana CM, Vecchiatta IR, Negrão AB. Etiologia dos transtornos alimentares: aspectos biológicos, psicológicos e sócio-culturais. Rev Bras Psiq. 2002;24(3):18-23.
10. Jacobi C, Hayward C, de Zwaan M, Kraemer HC, Agras WS. Coming to terms with risk factors for eating disorders: application of risk terminology and suggestions for a general taxonomy. Psychol Bull. 2004;130(1):19-65.
11. Dalle Grave R. Eating disorders: progress and challenges. Eur J Intern Med. 2011;22(2):153-60.
12. Bulik CM, Sullivan PF, Wade TD, Kendler KS. Twin studies of eating disorders: a review. Int J Eat Disord. 2000;27(1):1-20.
13. Klump KL, Miller KB, Keel PK, McGue M, Iacono WG. Genetic and environmental influences on anorexia nervosa syndromes in a population-based twin sample. Psychol Med. 2001;31(4):737-40.
14. Hebebrand J, Remschmidt H. Anorexia nervosa viewed as an extreme weight condition: genetic implications. Human Genetics. 1995;95:1-11.
15. Pinheiro AP, Sullivan PF, Bacaltchuck J, Prado-Lima PA, Bulik CM. Genetics in eating disorders: extending the boundaries of research. Rev Bras Psiq. 2006;28:218-25.
16. Sulek S, Lacinová Z, Dolinková M, Haluzík M. Genetic polymorphisms as a risk factor for anorexia nervosa. Prague Med Rep. 2007;108:215-25.
17. Scherag S, Hebebrand J, Hinney A. Eating disorders: the current status of molecular genetic research. Eur Child Adolesc Psychiatry. 2010;19:211-26.
18. Smitka K, Papezova H, Vondra K, Hill M, Hainer V, Nedvidkova J. The role of "mixed" orexigenic and anorexigenic signals and autoantibodies reacting with appetite-regulating neuropeptides and peptides of the adipose tissue-gut-brain axis: relevance to food intake and nutritional status in patients with anorexia nervosa and bulimia nervosa. Int J Endocrinol. 2013;2013:4831-45.
19. Collier E, Castellini G, Ricca V, Bagnoli S, Toddi A, Rotella CM, et al. Glucocorticoid receptor gene polymorphisms in Italian patients with eating disorders and obesity. Psychiatr Genet. 2010;20:282-8.
20. Hinney A, Friedel S, Remschmidt H, Hebebrand J. Genetic risk factors in eating disorders. Am J Pharmacogenomics. 2004;4(4):209-23.
21. Atalayer D, Gibson C, Konopacka A, Geliebter A. Ghrelin and eating disorders. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2013;40:70-82.
22. Druce M, Bloom SR. The regulation of appetite. Arch Dis Child. 2006;91:183-7.
23. Scerif M, Goldstone AP, Korbonits M. Ghrelin in obesity and endocrine diseases. Mol Cell Endocrinol. 2011;340:15-25.
24. Hebebrand J, Remschmidt H. Anorexia nervosa viewed as an extreme weight condition: genetic implications. Human Genetics. 1995;95:1-11.
25. Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL. Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. Cell. 2008;132:387-96.
26. Cummings DE, Frayo RS, Marmonier C, Aubert R, Chapelot D. Plasma ghrelin levels and hunger scores in humans initiating meals voluntarily without time- and food-related cues. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004;287:E297-304.
27. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. Diabetes. 2001;50(8):1714-9.
28. Tucci S. Grelina en regulación del apetito y papel en obesidad y trastornos alimentarios: Abordajes terapéuticos. Rev Venez Endocrinol Metab. 2008;6(2):15-23.
29. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. Nature. 1999;402:656-60.
30. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberator PA, Rosenblum CI, et al. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. Science. 1996;273:947-77.

31. Smith RG, Van der Ploeg LHT, Howard AD, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, et al. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. Endocr Rev. 1997;18:621-45.
32. Sousse LM, Lopez M, Tovar S, Casanueva FF, Senaris R, Dieguez C. Agouti-related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin-producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. Endocrinology. 2003;144:544-51.
33. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. Neuron. 2003;37:649-61.
34. Hassouna R, Zizzari P, Tolle V. The ghrelin/obestatin balance in the physiological and pathological control of growth hormone secretion, body composition and food intake. J Neuroendocrinol. 2010;22(7):793-804.
35. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. Biochem Biophys Res Commun. 2000;279:909-13.
36. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. Diabetes. 2001;50:707-9.
37. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87:240-4.
38. Erdmann J, Lippl F, Wagenpfeil S, Schusdziarra V. Differential association of basal and postprandial plasma ghrelin with leptin, insulin, and type 2 diabetes. Diabetes. 2005;54:1371-8.
39. Stock S, Leichner P, Wong AC, Gharib MA, Kiefer TI, Bloom SR, et al. Ghrelin, peptide YY, glucose-dependent insulinotropic polypeptide, and hunger responses to a mixed meal in anorexic, obese, and control female adolescents. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(4):2161-8.
40. English PT, Gharib MA, Malik IA, Bloom SR, Wilding JP. Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87:2984.
41. Sertano-Guilen I, Barrios V, Campos-Barros A, Argente J. Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. J Pediatr. 2004;144:36-42.
42. Wah P, King I, He Z, Tomb D, Horvath K. Ghrelin and obestatin levels in children with failure to thrive and obesity. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014;58(3):376-81.
43. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, et al. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. N Engl J Med. 2002;346:1623-30.
44. Hansen TK, Dall R, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Christiansen JS, et al. Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. Clin Endocrinol (Oxf). 2002;56:203-6.
45. Nedvidkova J, Krykorkova I, Bartak V, Papezova H, Gold PW, Alexi S, et al. Loss of meal-induced decrease in plasma ghrelin levels in patients with anorexia nervosa. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:1678-82.
46. Otto B, Cuntz U, Fruehauf E, Wawarta R, Folwaczny C, Riepl RL, et al. Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. Eur J Endocrinol. 2001;145:669-73.
47. Monteleone P, Serritella C, Martiadis V, Scognamiglio P, Maj M. Plasma obestatin, ghrelin, and ghrelin/obestatin ratio are increased in underweight patients with anorexia nervosa but not in symptomatic patients with bulimia nervosa. J Clin Endocrinol Metab. 2008;93:4418-21.
48. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86(10):4753-8.
49. Misra M, Miller KK, Herzog DB, Ramaswamy K, Aggarwal A, Almazan C, et al. Growth hormone and ghrelin responses to an oral glucose load in adolescent girls with anorexia nervosa and controls. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(4):1605-12.
50. Yi CX, Heppner K, Tschop MH. Ghrelin in eating disorders. Mol Cell Endocrinol. 2011;340(1):29-34.
51. Tolle V, Kadem M, Bluet-Pajot MT, Frere D, Foulon C, Bossu C, et al. Balance in ghrelin and leptin plasma levels in anorexia nervosa patients and constitutionally thin women. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:109-16.
52. Monteleone P, Martiadis V, Fabrazzo M, Serritella C, Maj M. Ghrelin and leptin responses to food ingestion in bulimia nervosa: implications for binge-eating and compensatory behaviours. Psychol Med. 2003;33:1387-94.
53. Monteleone P, Fabrazzo M, Tortorella A, Martiadis V, Serritella C, Maj M. Circulating ghrelin is decreased in non-obese and obese women with binge eating disorder as well as in obese non-binge eating women, but not in patients with bulimia nervosa. Psychoneuroendocrinology. 2005a;30:243-50.
54. Tanaka M, Naruo T, Muranaga T, Yasuhara D, Shiiya T, Nakazato M, et al. Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. Eur J Endocrinol. 2002;146:R1-3.
55. Jaras-Kozik M, Krupka-Matuszczyk I, Malinowska-Kolodziej I, Lewin-Kowalik J. Total ghrelin plasma level in patients with the restrictive type of anorexia nervosa. Regul Pept. 2007;140:43-6.
56. Nakahara T, Kojima S, Tanaka M, Yasuhara D, Harada T, Sagiyama K, et al. Incomplete restoration of the secretion of ghrelin and PYY compared to insulin after food ingestion following weight gain in anorexia nervosa. J Psychiatr Res. 2007;41:814-20.
57. Terra X, Auguet T, Aguilera Z, Quesada IM, Orellana-Gavaldá JM, Aguilar C, et al. Adipocytokine levels in women with anorexia nervosa. Relationship with weight restoration and disease duration. Int J Eat Disord. 2013;46(8):855-6.
58. Otto B, Tschöp M, Fruhauf E, Heldwein W, Fichter M, Otto C, et al. Postprandial ghrelin release in anorectic patients before and after weight gain. Psychoneuroendocrinology. 2005;30(6):577-81.
59. Tanaka M, Naruo T, Nagai N, Kuroki N, Shiiya T, Nakazato M, et al. Habitual binge/purge behavior influences circulating ghrelin levels in eating disorders. J Psychiatr Res. 2003a;37(1):17-22.
60. Tanaka M, Naruo T, Yasuhara D, Tatebe Y, Nagai N, Shiiya T, et al. Fasting plasma ghrelin levels in subtypes of anorexia nervosa. Psychoneuroendocrinology. 2003b;28(7):829-35.
61. Tanaka M, Tatebe Y, Nakahara T, Yasuhara D, Sagiyama K, Muranaga T, et al. Eating pattern and the effect of oral glucose on ghrelin and insulin secretion in patients with anorexia nervosa. Clin Endocrinol (Oxf). 2003c;59(5):574-9.
62. Tanaka M, Nakahara T, Kojima S, Nakano T, Muranaga T, Nagai N, et al. Effect of nutritional rehabilitation on circulating ghrelin and growth hormone levels in patients with anorexia nervosa. Regul Pept. 2004;122:163-8.
63. Trotti A, Di Lorenzo G, Lega I, Tessaro M, Bertolt A, Leo R, et al. Plasma ghrelin in anorexia, bulimia, and binge-eating disorder: relations with eating patterns and circulating concentrations of cortisol and thyroid hormones. Neuroendocrinology. 2005;81:259-66.
64. Monteleone P, Serritella C, Scognamiglio P, Maj M. Enhanced ghrelin secretion in the cephalic phase of food ingestion in women with bulimia nervosa. Psychoneuroendocrinology. 2010;35:284-8.
65. Kojima S, Nakahara T, Nagai N, Muranaga T, Tanaka M, Yasuhara D, et al. Altered ghrelin and peptide YY responses to meals in bulimia nervosa. Clin Endocrinol (Oxf). 2005;62:74-8.
66. Nakazato M, Hashimoto K, Shiina A, Koizumi H, Mizuno M, Imai M, et al. No changes in serum ghrelin levels in female patients with bulimia nervosa. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2004;28:1181-4.
67. Monteleone P, Martiadis V, Rigamonti AE, Fabrazzo M, Giordani C, Muller EE, et al. Investigation of peptide YY and ghrelin responses to a test meal in bulimia nervosa. Biol Psychiatry. 2005b;57:926-31.
68. Geliebter A, Gluck ME, Hashim SA. Plasma ghrelin concentrations are lower in binge-eating disorder. J Nutr. 2005;135:1326-30.
69. Prince AC, Brooks SJ, Stahl D, Treasure J. Systematic review and meta-analysis of the baseline concentrations and physiologic responses of gut hormones to food in eating disorders. Am J Clin Nutr. 2009;89(3):755-65.
70. Liu B, Garcia EA, Korbonits M. Genetic studies on the ghrelin, growth hormone secretagogue receptor (GHSR) and ghrelin O-acyl transferase (GOAT) genes. Peptides. 2011;32(11):2191-207.
71. The National Center for Biotechnology Information [Internet]. Bethesda (MD): United State National Library of Medicine, c1992 – [cited 2015 Fev 11]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov.
72. Seim I, Collet C, Herington AC, Chopin LK. Revised genomic structure of the human ghrelin gene and identification of novel exons, alternative splice variants and natural antisense transcripts. BMC Genomics. 2007;8:16.
73. Collier E, Nacmias B, Brocchi-Anderlulu D, Badia-Casanovas A, Bellodi L, Boni C, et al. Case-control and combined family trios analysis of three polymorphisms in the ghrelin gene in European patients with anorexia and bulimia nervosa. Psychiatr Genet. 2006;16:51-2.

74. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rasch R, Klein C, et al. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. Science. 2005;310:996-9.
75. McKee KK, Palyha OC, Feighner SD, Hreniuk DL, Tan CP, Phillips MS, et al. Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. Mol Endocrinol. 1997;11:415-23.
76. Leung PK, Chow KHS, Lau PN, Chu KM, Chan CB, Cheng CHK, et al. The truncated ghrelin receptor polypeptide (GHS-R1b) acts as a dominant-negative mutant of the ghrelin receptor. Cell Signal. 2007;19:1011-22.
77. Gomez R, Lago F, Gomez-Reino JJ, Dieguez C, Gualillo O. Expression and modulation of ghrelin O-acyltransferase in cultured chondrocytes. Arthritis Rheum. 2009;60:1764-9.
78. Gutierrez JA, Solenberg PJ, Perkins DR, Willency JA, Knierman MD, Jin Z, et al. Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105:6320-5.
79. Ando T. Ghrelin gene variants and eating disorders. Vitam Horm. 2013;92:107-23.
80. Sato T, Nakamura Y, Shimura I, Ohgusu H, Kangawa K, Kojima M. Structure, regulation and function of ghrelin. J Biochem. 2012;151(2):119-28.
81. Ando T, Komaki G, Naruo T, Okabe K, Takii M, Kawai K, et al. Possible role of preproghrelin gene polymorphisms in susceptibility to bulimia nervosa. Am J Med Genet Part B-Neuropsychiatr Genet. 2006;B141:929-34.
82. Monteleone P, Tortorella A, Castaldo E, DiFilippo C, Maj M. No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene with anorexia nervosa or bulimia nervosa. Neurosci Lett. 2006;398:325-7.
83. Miyamoto K, Hosoya H, Sekine A, Ohta M, Amono H, Matsubita S, et al. Association of ghrelin receptor gene polymorphism with bulimia nervosa in a Japanese population. J Neurol Transm. 2006;113:1279-85.
84. Dardennes RM, Zizzari P, Tolle V, Foulon C, Kipman A, Romo L, et al. Family trios analysis of common polymorphisms in the obestatin/ghrelin, BDNF and AGRP genes in patients with Anorexia nervosa: Association with subtype, body-mass index, severity and age of onset. Psychoneuroendocrinology. 2007;32:106-13.
85. Muller TD, Tschop MH, Jurick I, Ehrlich S, Schreag S, Herpertz-Dahlmann B, et al. Genetic variation of the ghrelin activator gene ghrelin O-acyltransferase (GOAT) is associated with anorexia nervosa. J Psychiatr Res. 2011 May;45(5):706-11.
86. Kinzler I, Butler U, de Zwaan M, Fuchs K, Letsch F, Grün B, et al. No association of the neuropeptide Y (Leu7Pro) and ghrelin gene (Arg51Gln, Leu72Met, Gln90Leu) single nucleotide polymorphisms with eating disorders. Nord J Psychiatry. 2011;65(3):203-7.

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO PRÓPRIO UTILIZADO NA PESQUISA

IPQ - HCFMUSP
Programa de Transtornos Alimentares – AMBULIM
Laboratório de Neurociências – LIM 27
PROJETO AGATA – DNA AMBULIM
"ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DE GENES DO SISTEMA MONOAMINÉRGICO E DE REGULAÇÃO DO APETITE ASSOCIADOS AOS TRANSTORNOS ALIMENTARES"

CÓDIGO DA PESQUISA (IDENTIFICAÇÃO) AMBULIM

CÓDIGO DA PESQUISA (IDENTIFICAÇÃO) LIM 27

Identificação **Data:** _____/_____/_____	*Grau de Escolaridade:*
ID Sujeito: □□□□□□ RGHC:	□ Analfabeto □ Fundamental incompl. (até 5 ano) □ Fundamental compl. (até 5 ano)
□Controle □Pac. Novo □ Pac. Antigo Sexo: □F □M	□ Fundamental incompl. (até 9 ano) □ Fundamental incompl. (até 9 ano) □ Médio incompl.
Diagnóstico do TA: Paciente tem/teve TCAP? □S□N	□ Médio compl □ Superior incompl. □ Superior compl
Nome Completo:	*Outros dados:*
	Data da entrada no AMBULIM _____/_____/_____
RG: CPF:	Diagnóstico Inicial: _____
Data de Nasc: _____/_____/_____ Idade: _____ a _____ m	Diagnóstico Atual: _____
Cidade/ Estado de Nascimento:	*Dados Antropométricos:*
Endereço:	Peso: _____ Kg Altura: _____ m
n °:	IMC: _____ Kg/m2
Bairro: Cidade:	*Outras informações:*
Estado: CEP:	Etnia: □Branco □Pardo □Negro□Amarelo □Indígena
Complemento:	Etnia Avós maternos:
	Etnia Avós paternos:
Tel Res: ( ) Tel Com: ( )	*Controle /Fases da Pesquisa:*
Celular: ( )	□ Coleta de dados: □ Tabulação
Profissão:	□EAT □KAKESHITA □MINI □ Análise dos dados Genética
Renda individual aprox. últimos 12 meses:	□Aval do Psiquiatra

1

APÊNDICE C – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: ....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : ..... SEXO : .M □ F □
DATA NASCIMENTO: ...../...../.....
ENDEREÇO ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE .....
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....) .....

2.RESPONSÁVEL LEGAL .....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.) .....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M □ F □
DATA NASCIMENTO.: ...../...../.....
ENDEREÇO: ..... Nº ..... APTO: .....
BAIRRO: ..... CIDADE: .....
CEP: ..... TELEFONE: DDD(.....).....

DADOS SOBRE AS PESQUISAS

1. TÍTULO DOS PROTOCOLOS DE PESQUISAS:

"ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DE GENES DO SISTEMA MONOAMINÉRGICO E DE REGULAÇÃO DO APETITE ASSOCIADOS AOS TRANSTORNOS ALIMENTARES" e

"POLIMORFISMOS DOS GENES DO RECEPTOR DA GRELINA (GHS-R) E DA ENZIMA GRELINA O-ACILTRANSFERASE (GOAT) EM PACIENTES COM TRANSTORNOS ALIMENTARES"

PESQUISADOR :Dr. Táki Athanássios Cordás

CARGO/FUNÇÃO: Professor colaborador Psiquiatria. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 42071

UNIDADE DO HCFMUSP: Departamento e Instituto de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. –

PESQUISADOR: Alessandra Donzelli Fabbri

CARGO/FUNÇÃO: Mestranda NEC IP-USP/ Colaboradora do AMBULIM-IPQ INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 19552

UNIDADE DO HCFMUSP: AMBULIM-IPQ-HC-FMUSP

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO x RISCO MÉDIO □

RISCO BAIXO □ RISCO MAIOR □

4.DURAÇÃO DA PESQUISA : 30 meses

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1 – Desenho do estudo e objetivos:

Essas informações estão sendo fornecidas para sua participação voluntária neste estudo que visa a avaliar o efeito de alguns genes no desenvolvimento dos transtornos alimentares. Já se sabe que alguns genes influenciam no nosso comportamento alimentar. O organismo produz várias substâncias, como a serotonina e a grelina, que vão regular o humor, o apetite e a quantidade de comida que ingerimos. Os genes que queremos estudar estão envolvidos no funcionamento destas substâncias dentro do organismo. Já que cada pessoa tem um conjunto genético diferente, queremos estudar estas diferenças que podem fazer com que uma pessoa possa apresentar o transtorno alimentar e outras não.

2 – Descrição dos procedimentos que serão realizados: Se você decidir participar, preencheremos uma ficha com seu histórico e você responderá a questionários sobre a sua saúde física e psíquica em geral e sobre sua alimentação. Além disso, será feita uma coleta de 10-20 mL (equivalente a 3 colheres de sopa) de sangue numa seringa em uma veia do antebraço. O sangue coletado será encaminhado para um laboratório aqui do Hospital das Clinicas. O material genético das células do sangue será extraído e utilizado para avaliações genéticas. A coleta da amostra será feita por profissionais altamente qualificados. O material será codificado de modo que a identidade dos participantes não seja revelada.

3 – Relação dos procedimentos rotineiros realizados: Histórico, avaliação psiquiátrica, clínica e nutricional, através de questionários, coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço.

4 – Descrição dos desconfortos e riscos esperados: os desconfortos e riscos esperados com relação à coleta de sangue são mínimos. Você poderá sentir um pouco de dor ou desconforto durante a picada. Este procedimento pode gerar um pequeno hematoma localizado.

5 – Benefícios para o participante - Não há benefício direto para o participante.

6 – Relação de procedimentos alternativos: Não existem procedimentos alternativos previstos no estudo.

7 – Garantia de acesso: Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Os principais investigadores são o Prof. Dr. Táki Athanássios Cordás e a Mestranda Alessandra Donzelli Fabbri que podem ser encontrados no endereço Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 785, São Paulo – SP Telefone: (011) 2662-6975. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)** – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (011) 2661-6442 ramais 16, 17, 18 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br ou com a **Secretaria da Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo (CEPH – IPUSP)** no endereço: Av. Professor Mello Moraes, 1721 – Bloco G, sala 27 CEP 05508-030 - Cidade Universitária - São Paulo/SP pelo telefone: 011-3091-4182, ou pelo e-mail: *ceph.ip@usp.br***.**

8 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

9 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente;

10 – Direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores;

11 – Despesas e compensações: não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação. Se existir qualquer despesa adicional, ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa.

12- O material coletado será armazenado para que se possa fazer outros estudos futuramente, sempre com autorização da Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clinicas (CAPPesq) e do responsável por esta pesquisa. O tempo de armazenamento será autorizado pelo referido Comitê, podendo ser posteriormente prorrogado em caso de necessidade, porém não ultrapassará o tempo máximo de 10 anos. Em qualquer momento você poderá retirar a autorização sem qualquer prejuízo.

No caso de realização de outras pesquisas usando este material doado, há necessidade de contatá-lo para obter novas autorizações?

( ) Não, eu dispenso estas novas autorizações, pois estou ciente e de acordo que cada nova pesquisa será analisada pela Comissão para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP que autorizará ou não a utilização do material biológico que foi por mim doado.

( ) Sim, no caso de novas pesquisas, eu quero ser contatado para autorizar ou não a utilização do material biológico que foi por mim doado.

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"Análise de polimorfismos de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares" e** "**Polimorfismos dos genes do receptor da grelina (GHS-R) e da enzima grelina o-aciltransferase (GOAT) em pacientes com transtornos alimentares"**

Eu discuti com o Prof. Dr. Táki Athanássios Cordás e/ou Mestranda Alessandra Donzelli Fabbri sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Impressão do polegar direito da paciente, caso esta não saiba escrever seu nome

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

(Via Pesquisador)

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"Análise de polimorfismos de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares" e** "**Polimorfismos dos genes do receptor da grelina (GHS-R) e da enzima grelina o-aciltransferase (GOAT) em pacientes com transtornos alimentares"**

Eu discuti com o Prof. Dr. Táki Athanássios Cordáse e/ou Mestranda Alessandra Donzelli Fabbri sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____/____/____

Impressão do polegar direito da paciente, caso esta não saiba escrever seu nome

---

Assinatura da testemunha Data ____/____/____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____/____/____

(Via Paciente)

ANEXOS

ANEXO A – QUESTIONÁRIO EATING ATTITUDE TEST, VERSÃO COM 26 QUESTÕES (EAT-26).

I – QUESTIONÁRIO ATITUDES ALIMENTARES PARA ADULTOS (EAT)

ID Sujeito: ☐☐☐☐☐☐

EAT – Circule as opções S = sempre / MV = muitas vezes / AV = às vezes / PV = poucas vezes / QN = quase nunca / N = nunca / NS/NR = não sabe/não quer responder

	S	MV	AV	PV	QN	N	NS/NR		S	MV	AV	PV	QN	N	NS/NR
1. Você fica apavorada com a ideia de estar engordando?	3	2	1	0	0	0	0	14. Você fica preocupada pensando que tem gordura no seu corpo?	3	2	1	0	0	0	0
2. Você evita comer quando está com fome?	3	2	1	0	0	0	0	15. Você demora mais tempo para fazer as suas refeições do que as outras pessoas?	3	2	1	0	0	0	0
3. Você se preocupa com o que come?	3	2	1	0	0	0	0	16. Você evita comer comidas que tenham açúcar?	3	2	1	0	0	0	0
4. Digamos que você comece a comer em exagero. Se você continuar, você sente que não é capaz de parar?	3	2	1	0	0	0	0	17. Você costuma comer comidas diets ou lights?	3	2	1	0	0	0	0
5. Você corta a sua comida em pequenos pedaços?	3	2	1	0	0	0	0	18. Você sente que a comida controla a sua vida?	3	2	1	0	0	0	0
6. Você presta atenção na quantidade de calorias dos alimentos que você come?	3	2	1	0	0	0	0	19. Você demonstra auto-controle diante da comida?	3	2	1	0	0	0	0
7. Você evita especialmente comidas ricas em carboidratos, como pão, arroz, batata, etc?	3	2	1	0	0	0	0	20. Você sente que os outros te pressionam para comer?	3	2	1	0	0	0	0
8. Você sente que os outros gostariam que você comesse mais?	3	2	1	0	0	0	0	21. Você passa muito tempo pensando em comer?	3	2	1	0	0	0	0
9. Você provoca vômitos depois de comer?	3	2	1	0	0	0	0	22. Você sente desconforto após comer doces?	3	2	1	0	0	0	0
10. Você se sente muito culpada depois de comer?	3	2	1	0	0	0	0	23. Você faz regimes para emagrecer?	3	2	1	0	0	0	0
11. Você fica preocupada desejando ser mais magra?	3	2	1	0	0	0	0	24. Você gosta de sentir seu estômago vazio?	3	2	1	0	0	0	0
12. Você pensa em queimar calorias a mais quando se exercita?	3	2	1	0	0	0	0	25. Você gosta de experimentar novas comidas, independentemente das calorias que elas têm?	0	0	0	1	2	3	0
13. As pessoas te acham muito magra?	3	2	1	0	0	0	0	26. Você sente vontade de vomitar após as refeições?	3	2	1	0	0	0	0

27. TOTAL: ☐

ANEXO B - REGULAMENTO DO BIORREPOSITÓRIO DESCRITO NO PROJETO "AVALIAÇÃO DE GENES DO SISTEMA MONOAMINÉRGICO E DE REGULAÇÃO DO APETITE ASSOCIADOS AOS TRANSTORNOS ALIMENTARES"

REGULAMENTO DO BIORREPOSITÓRIO

Título do Projeto de Pesquisa:

"Avaliação de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares"

Nome do Pesquisador Responsável: Prof.Dr. Táki Athanássios Cordás

Responsável Institucional LIM-27: Prof. Dr. Wagner Farid Gattaz

Instituições Envolvidas: Programa de Transtornos Alimentares-AMBULIM Ipq-FMUSP / Laboratório de Neurociências LIM 27

1. O material biológico humano armazenado no Biorrepositório é do sujeito da pesquisa, permanecendo sua guarda sob a responsabilidade institucional e seu gerenciamento será feito pelo pesquisador responsável.

2. O sujeito da pesquisa, ou seu representante legal, a qualquer tempo e sem quaisquer ônus ou prejuízos, pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico no Biorrepositório, valendo a desistência a partir da data de formalização desta. A retirada do consentimento será formalizada por manifestação, por escrito e assinada, pelo sujeito da pesquisa ou seu representante legal, cabendo-lhe a devolução das amostras existentes.

3. O prazo de armazenamento de material biológico humano no Biorrepositório será de acordo com o cronograma da pesquisa, sendo que o prazo máximo é de 10 anos.

3.1. A Renovação da autorização de armazenamento neste Biorrepositório deverá ser solicitada pelo pesquisador responsável à Comissão de Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas (CAPPesq) mediante justificativa e relatório das atividades de pesquisa desenvolvidas com o material durante o período.

4. Ao final do período de realização da pesquisa, o material biológico humano armazenado neste Biorrepositório poderá ser transferido formalmente para outro Biorrepositório ou Biobanco, mediante aprovação da CAPPesq, ou deverá ser descartado, conforme normas vigentes de órgãos técnicos competentes, e de acordo com o TCLE, respeitando-se a confidencialidade e a autonomia do sujeito da pesquisa.

4.1 O sujeito da pesquisa deve ser informado sobre a perda ou destruição de suas amostras biológicas, bem como sobre o encerramento do Biorrepositório.

5. Não será solicitado patenteamento e não haverá utilização comercial do material biológico humano armazenado no Biorrepositórios.

6. As amostras armazenadas neste Biorrepositório podem ser utilizadas em novas pesquisas somente mediante aprovação prévia pela CAPPesq e, quando for o caso, pela CONEP. Na solicitação deverão constar os seguintes documentos:

a) justificativa para utilização do material

b) as cópias do TCLE empregado quando da coleta do material, contendo autorização de armazenamento e possível utilização futura em pesquisa.

c) TCLE específico para nova pesquisa ou a solicitação de sua dispensa.

c) justificativas que fundamentem a impossibilidade de obtenção do consentimento específico para a nova pesquisa (se na época da doação o sujeito optou por ser consultado a cada uma nova pesquisa).

7. As coletas de sangue, extração e armazenamento do DNA serão realizados no Laboratório de Neurociências (LIM-27) por pessoal capacitado.

O DNA extraído será aliquotado e estocado em freezer -20°C até a sua utilização. Os experimentos deste projeto serão realizados no LIM-27.

A utilização, transferência ou descarte, deste biorrepositório, ou parte dele, só poderá ser realizada com a autorização por escrito dos representantes de ambas as instituições participantes.

ANEXO C – APROVAÇÃO DO PROJETO "POLIMORFISMOS DOS GENES DO RECEPTOR DA GRELINA (GHS-R) E DA ENZIMA GRELINA O-ACILTRANSFERASE (GOAT) EM PACIENTES COM TRANSTORNOS ALIMENTARES" PELO COMITÊ DE ÉTICA E PESQUISA EM SERES HUMANOS DO INSTITUTO DE PSICOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (CEPH-IPUSP).

Plataforma Brasil

Informe o E-mail | Informe a Senha | LOGIN

Esqueceu a senha? Cadastre-se v3.0

Você está em: Público > Buscar Pesquisas Aprovadas > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título Público: POLIMORFISMOS DOS GENES DO RECEPTOR DA GRELINA (GHS-R) E DA ENZIMA GRELINA O-ACILTRANSFERASE (GOAT) EM PACIENTES COM TRANSTORNOS ALIMENTARES.
Pesquisador Responsável: Alessandra Donzelli Fabbri
Contato Público: Alessandra Donzelli Fabbri
Condições de saúde ou problemas estudados: polimorfismo genético
Transtornos Alimentares
Descritores CID - Gerais: Transtorno de alimentacao nao especificado
Anorexia nervosa
Bulimia nervosa
Descritores CID - Específicos: Transtorno de alimentacao nao especificado
Anorexia nervosa
Bulimia nervosa
Descritores CID - da Intervenção:
Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 14/10/2013

PLATAFORMA BRASIL COORDENADOR PLATAFORMA BRASIL

DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

Nome da Instituição: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO
Cidade: SÃO PAULO

DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética Responsável: 5561 - Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo
Endereço: Av. Prof. Mello Moraes,1721 - Bl. "G" sala 27
Telefone: (11)3091-4182
E-mail: ceph.ip@usp.br

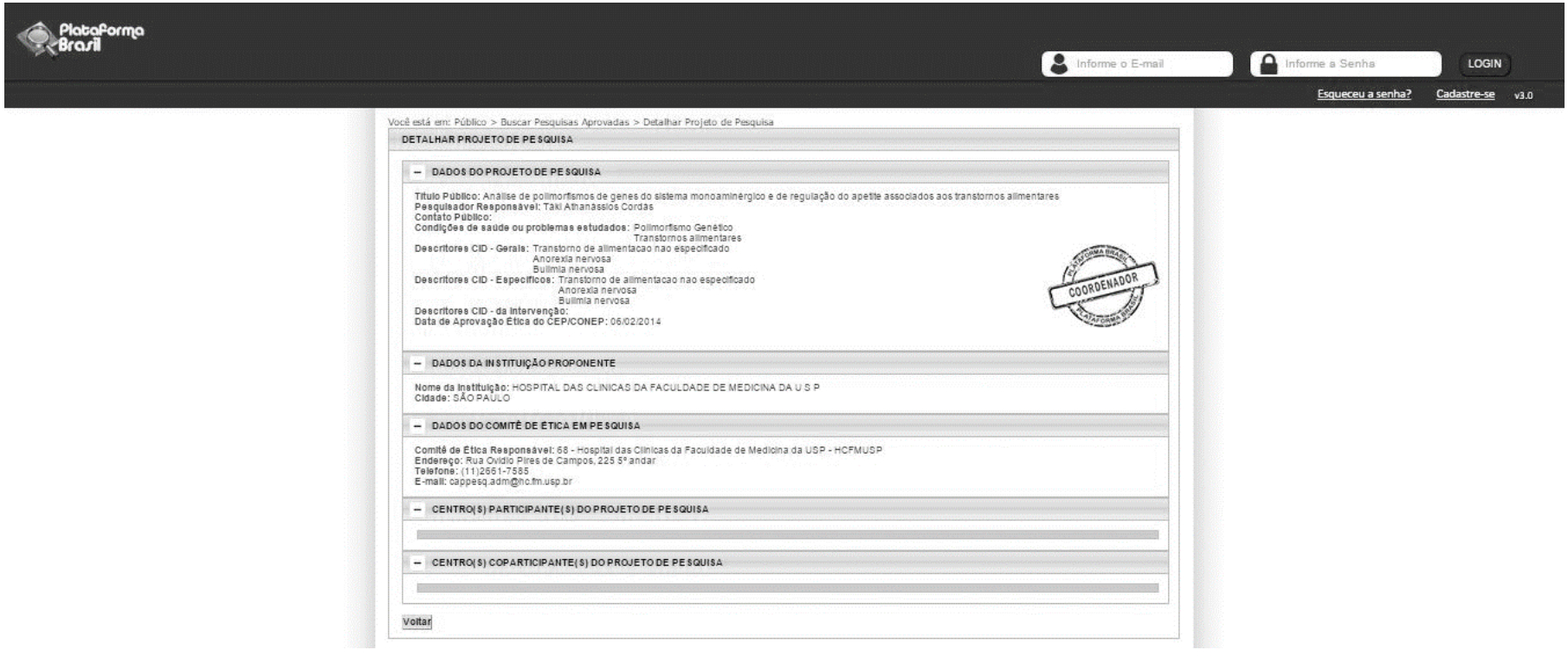
CENTRO(S) PARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

CENTRO(S) COPARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

Nome: Instituto de Psiquiatria do Hospital das Clínicas
Cidade: SÃO PAULO

Voltar

ANEXO D - APROVAÇÃO DO PROJETO "ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DE GENES DO SISTEMA MONOAMINÉRGICO E DE REGULAÇÃO DO APETITE ASSOCIADOS AOS TRANSTORNOS ALIMENTARES" PELA COMISSÃO DE ÉTICA PARA ANÁLISE DE PROJETOS DE PESQUISA DO HC-FMUSP (CAPPESQ)



Plataforma Brasil

Informe o E-mail | Informe a Senha | LOGIN

Esqueceu a senha? Cadastre-se v3.0

Você está em: Público > Buscar Pesquisas Aprovadas > Detalhar Projeto de Pesquisa

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título Público: Análise de polimorfismos de genes do sistema monoaminérgico e de regulação do apetite associados aos transtornos alimentares
Pesquisador Responsável: Táki Athanássios Cordás
Contato Público:
Condições de saúde ou problemas estudados: Polimorfismo Genético
Transtornos alimentares
Descritores CID - Gerais: Transtorno de alimentação não especificado
Anorexia nervosa
Bulimia nervosa
Descritores CID - Específicos: Transtorno de alimentação não especificado
Anorexia nervosa
Bulimia nervosa
Descritores CID - da Intervenção:
Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 06/02/2014

COORDENADOR

DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

Nome da Instituição: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P
Cidade: SÃO PAULO

DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética Responsável: 68 - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP - HCFMUSP
Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Telefone: (11)2661-7585
E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

CENTRO(S) PARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

CENTRO(S) COPARTICIPANTE(S) DO PROJETO DE PESQUISA

Voltar