UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

CRISTIANE MARIA MÁRTIRES DE LIMA

INGESTÃO AGUDA DE LIPÍDEOS E ALTERAÇÃO DA PERFUSÃO CEREBRAL DE PACIENTES OBESOS.

Versão definitiva. Versão anterior se encontra na Comissão de Pós-Graduação.

Ribeirão Preto
2015

Cristiane Maria Mártires de Lima

INGESTÃO AGUDA DE LIPÍDEOS E ALTERAÇÃO DA PERFUSÃO CEREBRAL DE PACIENTES OBESOS.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Julio Sergio Marchini.

Ribeirão Preto

2015

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

Lima, Cristiane Maria Mártires de

Ingestão aguda de lipídeos e alteração da perfusão cerebral de pacientes obesos. Cristiane Maria Mártires de Lima. Ribeirão Preto, 2015.

88f.

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP / Área de Concentração: Clínica Médica.

Orientador: Marchini, Júlio Sérgio

1 - Obesidade. 2 - Lipídeos. 3 - Perfusão Cerebral. 4 – SPECT

LIMA, C.M.M.

Ingestão aguda de lipídeos e alteração da perfusão cerebral de pacientes obesos.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, para obtenção de Doutor em Ciências Médicas.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a).: _____

Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Assinatura: _____

Prof(a). Dr(a).: _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho ao meu noivo José Henrique da Silva, cujo amor, companheirismo, paciência e força inesgotáveis diante de quaisquer adversidades me possibilitaram essa conquista.

Também o ofereço ao meu sobrinho David, cuja perseverança diária me ensinou a não desistir.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais João Amazonas Vieira de Lima e Maria das Graças Mártires de Lima e a minha irmã Luciane Maria Mártires de Lima Fridschtein por tudo que me ensinaram, pela fé que depositam em mim e por serem meu porto seguro.

A meu noivo José Henrique da Silva, meu grande companheiro nesta jornada cujo amor e dedicação me tornaram tanto uma pessoa como uma profissional melhor. As minhas amigas Luciane da Rocha Amorim, Ana Cristina Suarez Sicchar e Josephine Marie Fish Cardoso que sempre me apoiaram e incentivaram.

Ao meu orientador Prof. Dr. Julio Sergio Marchini por seu constante incentivo, disponibilidade e generosidade em transmitir seus conhecimentos e experiências.

Agradeço expressamente ao Prof. Dr. Lauro Wichert Ana cujo auxílio intelectual e infra-estrutura física por ele dispensada foram essenciais para a realização deste projeto. Aos enfermeiros, auxiliares administrativos e técnicos de enfermagem do Serviço de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto (HCFMRP). Aos alunos de pós-graduação em Física Médica, em especial Daniele Kanashiro Sonvenso e Leonardo Alexandre Santos, que muito contribuíram para a processamento das imagens obtidas.

Às enfermeiras e auxiliares administrativas da Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP onde as voluntárias foram admitidas nos dias de realização dos testes.

À enfermeira Silvia Aparecida Souza Babo e técnicas de Enfermagem Patrícia Fidélis, Júlia Furlan, Aparecida Ribeiro e Lucelina de Castro, da Unidade Metabólica do HCFMRP, que nos auxiliaram na coleta dos exames para a triagem das voluntárias.

À enfermeira Maria do Rosário Del Lama de Unamuno que nos auxiliou na coleta das dosagens séricas de hormônios e metabólitos durante a realização dos testes. Ao químico Gilberto João Padovan pelo seu empenho no laboratório relacionado ao processamento e armazenamento das amostras coletadas e à biomédica Mônica Silva de Souza Meirelles cujo auxílio foi fundamental para a realização das dosagens laboratoriais.

Agradeço em especial à FAPESP que por meio do processo de auxílio à pesquisa número 2012/03485-2 e do processo de bolsa de doutorado número 2012/21626-2 apoiaram este estudo.

Dedico meus sinceros agradecimentos à banca examinadora e respectivas contribuições, bem como a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste projeto.

RESUMO

LIMA, C. M. M. **Ingestão aguda de lipídeos e alteração da perfusão cerebral de pacientes obesas.** 2015. 88f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

A obesidade humana é caracterizada pelo acúmulo corporal de tecido adiposo branco. Sua fisiopatologia não pode ser somente explicada por um desequilíbrio entre ingestão e consumo de energia. Há uma série de fatores genéticos, humorais, ambientais e comportamentais interligados contribuindo para um balanço energético positivo e consequente ganho ponderal. Na regulação do comportamento alimentar, periferia e sistema nervoso central interagem por meio de sinais de fome e saciedade deflagrados por nutrientes ingeridos e peptídeos gastrointestinais. Todavia, pouco ainda se conhece sobre a ingestão de nutrientes isolados e suas repercussões no cérebro. Dessa forma, nossa hipótese é que a ingestão de lipídeo provoque alterações na atividade cerebral relacionadas à obesidade. **Objetivos:** Identificar quais regiões cerebrais são funcionalmente relacionadas à ingestão de lipídeos. Comparar a perfusão cerebral de voluntárias com e sem obesidade. Correlacionar alterações do fluxo sanguíneo cerebral com a gordura corporal e níveis séricos de glicose, triacilglicerois, insulina e leptina. **Materiais e Métodos:** Ensaio clínico, aleatorizado e cego envolvendo dois grupos de pessoas. Dez mulheres com obesidade e dez sem obesidade foram avaliadas por meio de exame clínico, calorimetria indireta, bioimpedância elétrica, exames laboratoriais (dosagens séricas de glicose, insulina, leptina e triacilglicerois) e Single-photon Emission Tomography cerebral após ingestão de água e de solução lipídica, tendo sido as voluntárias controles de si mesmas. **Resultados**: As médias (desvios padrão) do índice de massa corporal dos grupos sem e com obesidade foram respectivamente 21 (1,7) e 35 (3) kg/m^2. Também houve diferenças entre os grupos nas seguintes variáveis expressas em valores aproximados por média (desvio padrão): pressões arteriais sistólica - 107 (13) x 118 (12) mmHg, diastólica - 64 (10) x 74 (8) mmHg, HDL-colesterol - 53 (13) x 39 (6) mg/dL, nas glicemias dos tempos 0 - 82 (8) x 90 (5) mg/dL e 120 minutos do teste oral de tolerância à glicose - 84 (13) x 100 (18) mg/dL e gordura corporal - 17 (5) x 38 (3) kg. Em mulheres com obesidade, após ingestão de solução lipídica, houve redução da perfusão em regiões do lobo frontal, lobo temporal, ínsula, tronco cerebral, cerebelo, tálamo, putâmen, globo pálido, hipocampo, giro parahipocampal e opérculo frontal. Já em mulheres sem obesidade, após ingestão do mesmo desafio alimentar, foi observado aumento de perfusão em regiões anteriores do lobo frontal e do cíngulo anterior. As alterações encontradas não parecem ter relação com absorção lipídica. **Discussão e conclusão:** O aumento da perfusão cerebral no córtex pré-frontal, observado após a ingestão de solução lipídica apenas em pacientes sem obesidade, pode representar um maior controle do comportamento alimentar nesse grupo de pacientes. Por outro lado em pacientes com obesidade, após ingestão de água houve maior ativação de circuitos relacionados ao reconhecimento de sensações como fome e sede, associada após a ingestão de solução lipídica, à redução da perfusão em regiões envolvidas em regiões sensoriais gustatórias o que pode estar relacionado a uma ingestão alimentar aumentada decorrente de recompensa consumatória prejudicada. Ambos os mecanismos, isolados ou em conjunto, podem resultar em controle inapropriado do peso corporal e consequente obesidade.

Palavras chave: Obesidade. Lipídeo. SPECT. Leptina. Insulina.

ABSTRACT

Human obesity is characterized by body accumulation of white adipose tissue. The pathophysiology can not be explained only by an imbalance between energy intake and consumption. There are a number of genetic, humoral, environmental and behavioral factors interconnected contributing to a positive energy balance and subsequent weight gain. In the regulation of feeding behavior, peripheral and central nervous system interact through hunger and satiety signals triggered by nutrient intake and gastrointestinal peptides. However, little is known about the intake of isolated nutrients and their effects on the brain. Thus, our hypothesis is that lipid intake causes changes in brain activity related to obesity. **Objectives:** Identify which brain regions are functionally related to lipid intake. Compare cerebral perfusion of volunteers with and without obesity. Correlate changes in cerebral blood flow with body fat and serum glucose, triacylglycerols, insulin and leptin. **Materials and Methods:** A blind randomized clinical trial involving two groups of people. Ten women with obesity and ten without obesity were evaluated by clinical examination, indirect calorimetry, bioelectrical impedance analysis, laboratory tests (serum measurements of glucose, insulin, leptin and triacylglycerols) and Single-photon Emission Tomography of brain after ingestion of water and lipid solution, having been the volunteers controls of themselves. **Results:** The means (standard deviations) of body mass index of the groups with and without obesity were respectively 21 (1.7) and 35 (3) kg/m^2. There were still differences between the groups in the following variables expressed in approximate values for mean (standard deviation): systolic blood pressure - 107 (13) x 118 (12) mm Hg, diastolic blood pressure - 64 (10) x 74 (8) mmHg, HDL cholesterol - 53 (13) x 39 (6) mg/dL, glucose in times 0 - 82 (8) x 90 (5) mg/dL and 120 minutes of oral glucose tolerance test - 84 (13) x 100 (18) mg/dL and body fat - 17 (5) 38 x (3) kg. In obese women, after ingestion of lipid solution, decreased perfusion in regions of frontal lobe, temporal lobe, insula, brain stem, cerebellum, thalamus, putamen, globus pallidus, hippocampus, parahippocampal gyrus and frontal operculum was observed. On the other hand, women without obesity after eating the same food challenge presented increased perfusion in anterior regions of frontal lobe and anterior cingulate. The alterations found do not seem to be related to lipid absorption. **Discussion and conclusion:** After intake of lipids in patients without obesity, it was observed increased cerebral perfusion in areas related to control of inappropriate impulses. In patients with obesity, was found decreased perfusion in regions involved in gustatory sensibility. Both mechanisms, poor control of inappropriate impulses and increased food intake due to reduced consummatory reward, alone or together, can result in inappropriate control of body weight and consequent obesity.

Key words: Obesity. Lipid. SPECT. Leptin. Insulin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1. Classificação da adequação do peso e risco de comorbidades pelo Índice de Massa Corporal 13

Quadro 2. Risco de complicações metabólicas em relação à avaliação combinada de Índice de Massa Corporal e Circunferência Abdominal 14

Figura 1. Interações entre homeostase energética e circuitos de recompensa na determinação do comportamento alimentar 18

Figura 2. Fluxograma sobre o processo de recrutamento de voluntárias 25

Figura 3. Linha do tempo da realização do protocolo de pesquisa..... 29

Quadro 3. Características dos grupos sem e com obesidade em média (desvio padrão) ou mediana (intervalo interquartil) 35

Quadro 4. Peso, Índice de Massa Corporal e Pressão Arterial nas fases de triagem e com ingestão de lipídeo ou água em média (desvio padrão)..... 36

Quadro 5. Calorimetria e bioimpedância elétrica por grupo e fase, em média (desvio padrão) 37

Quadro 6. Médias (desvio padrão) de insulina, leptina, triglicérides e glicose séricas por grupo e fase..... 38

Figura 4. Regiões com perfusão aumentada em mulheres com obesidade em comparação às sem obesidade, após ingestão de água 39

Quadro 7. Regiões que apresentaram maior intensidade do sinal em mulheres com obesidade em relação às sem obesidade, após ingestão de água 40

Figura 5. Regiões com perfusão reduzida em mulheres com obesidade em comparação às sem obesidade, após ingestão de água..... 41

Quadro 8. Regiões que apresentaram menor perfusão cerebral em mulheres com obesidade em relação às sem obesidade, após ingestão de água 42

Quadro 9. Múltiplas comparações com correlação (*r; valor p*) entre intensidade do sinal extraída da subtração de imagens OBES água menos NOBES água e outras variáveis 42

Figura 6. Regiões com perfusão aumentada em mulheres com obesidade em comparação às sem obesidade, após ingestão de solução lipídica..... 43

Quadro 10. Regiões que apresentaram maior perfusão cerebral em mulheres com obesidade em relação às sem obesidade, após ingestão de solução lipídica 44

Quadro 11. Múltiplas comparações com correlação (*r; valor p*) entre intensidade do sinal extraída da subtração de imagens OBES lipídeo menos NOBES lipídeo e gordura corporal e concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias 44

Figura 7. Regiões com perfusão aumentada em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica 45

Figura 8. Gráfico com médias das mudanças na intensidade do sinal nos dois grupos após ingestão de solução lipídica 46

Quadro 12. Regiões que apresentaram maior perfusão cerebral em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica. 46

Quadro 13. Coeficientes de correlação de Pearson entre a mudança na atividade cerebral (região com maior perfusão em mulheres sem obesidade após lipídeo) e a mudança nas concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias 47

Figura 9. Regiões com perfusão reduzida em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica 48

Figura 10. Gráfico com médias das mudanças na intensidade do sinal nos dois grupos após ingestão de solução lipídica 49

Quadro 14. Regiões que apresentaram menor perfusão cerebral em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica 49

Quadro 15. Coeficientes de correlação de Pearson entre a mudança na atividade cerebral (região com menor perfusão em mulheres sem obesidade após lipídeo) e a mudança nas concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias 50

Figura 11. Regiões com perfusão reduzida em mulheres com obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica 51

Figura 12. Gráfico com médias das mudanças na intensidade do sinal nos dois grupos após ingestão de solução lipídica 52

Quadro 16. Regiões que apresentaram menor perfusão cerebral em mulheres com obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica 52

Quadro 17. Coeficientes de correlação de Pearson entre a mudança na atividade cerebral (região com menor perfusão em mulheres com obesidade após lipídeo) e a mudança nas concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias 53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgRP- *Agouti Related Protein*

ARC - Núcleo arqueado do hipotálamo

BA - Área de Brodmann

CA - Circunferência abdominal

DAT - Transportadores da Recaptação da Dopamina

fMRI - Ressonância Magnética funcional

HCFMRP - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

HDL - *High density lipoprotein*

IMC - Índice de Massa Corporal

LDL - *Low density lipoprotein*

MNI - Montreal Neurological Institute

NOBES - Grupo de voluntárias sem obesidade

NPY - Neuropeptídeo Y

NTS - Núcleo do trato solitário

OBES - Grupo de voluntárias com obesidade

OFC - Córtex orbitofrontal

PBN - Núcleo Parabraquial

PVN - Núcleo Paraventricular do hipotálamo

PET - Positron Emission Tomography

POMC - Proopiomelanocortina

ROIs - *regions of interest*

RNM - Ressonância Nuclear Magnética

SNC - Sistema nervoso central

SPECT - Single-photon Emission Tomography

SPM - Statistical Parametric Mapping

TC - Tomografia Computadorizada

^{99m}Tc-ECD - ^{99m}Tecnécio associado ao Ethyl Cysteinate Dimer

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13

2 OBJETIVOS 21

3 MATERIAIS E MÉTODOS 22
3.1 Delineamento do estudo 22
3.2 Casuística 22
3.3 Critérios de inclusão 22
3.4 Critérios de exclusão 22
3.5 Recrutamento 23
3.6 Protocolo de Pesquisa 226
3.7 Dosagens laboratoriais 30
3.8 Aquisição das imagens 30
3.9 Reconstrução tomográfica 30
3.10 Processamento das imagens 31
3.11 Transformação Espacial 31
3.12 Modelos de Inferência 32
3.13 Extração de Dados 33
3.14 Análise Estatística 33

4 RESULTADOS 35
4.1 Análise descritiva 35
4.2 Grupos OBES x NOBES, após ingestão de água 39
4.3 Grupos OBES x NOBES, após ingestão de lipídeo 42
4.4 Grupo NOBES após ingestão de lipídeo x NOBES após água 45
4.5 Grupos OBES após ingestão de lipídeo x OBES após água 50

5 DISCUSSÃO 54

6 CONCLUSÃO 58

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 59
APÊNDICES 70

1 - Aprovação no Comitê de Ética 70
2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 71
3 - Códigos dos tubos das coletas de sangue e microtubos das amostras de soro 78
4 - Correção de atenuação e reconstrução 81
5 - Banco de Dados 83

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença determinada pelo excesso de gordura corporal[1]. A massa corporal total de um paciente reflete o balanço energético, ou seja, a diferença entre a energia ingerida sob a forma de alimentos e aquela utilizada nos processos metabólicos para a manutenção do organismo. A energia não utilizada é armazenada sob a forma glicogênio hepático e muscular, bem como nos triacilglicerois do tecido adiposo e nas proteínas estruturais e funcionais[2].

A princípio, não há avaliação perfeita para diagnóstico de sobrepeso e obesidade. Na prática clínica, há métodos quantitativos e qualitativos para caracterizar a gordura corporal. Técnicas de imagem, como ressonância magnética, tomografia computadorizada e absorciometria com raios-X de dupla energia constituiriam alternativas, não fosse o custo elevado e a escassa disponibilidade dos equipamentos necessários para sua realização. Outros métodos como a medida das pregas cutâneas, ultrassonografia e análise de bioimpedância são relativamente mais baratos, porém ainda de pouco acesso em muitas unidades de saúde[3].

O Índice de Massa Corporal (IMC), também conhecido como Índice de Quetelet, baseia-se em dados antropométricos e divide o peso em quilogramas (kg) pelo quadrado da altura em metros (m). A associação entre IMC, doenças crônicas e mortalidade tem sido utilizada para estabelecer classificação de risco de comorbidades em adultos[4]. O quadro 1 descreve, em adultos descendentes de europeus, a classificação da adequação do peso e o risco de comorbidades de acordo com o IMC:

Quadro 1. Classificação da adequação do peso e risco de comorbidades pelo Índice de Massa Corporal.

Classificação	IMC (kg/m^2)	Risco de comorbidades
Baixo Peso	< 18,5	Baixo
Normal	18,5 – 24,9	Médio
Sobrepeso	25 – 29,9	Aumentado
Obesidade grau I	30 – 34,9	Moderado
Obesidade grau II	35 – 39,9	Grave
Obesidade grau III	≥40	Muito Grave

Fonte: Diretrizes Brasileiras de Obesidade (2009).

No entanto, deve-se considerar que apesar de ser um bom indicador, o IMC não se correlaciona totalmente com a gordura corporal[5], não discrimina com precisão a massa magra

da massa gordurosa e nem reflete sua distribuição corporal[6,7]. Fatores como sexo, idade e etnia também alteram a relação do deste índice com a quantidade de gordura. Principalmente nos maiores graus de adiposidade[8], esta relação pode ser não linear. Portanto, para diferentes indivíduos com um mesmo IMC pode haver uma considerável variação na quantidade e na distribuição da gordura corporal[9].

A distribuição de gordura é importante na avaliação de sobrepeso e obesidade uma vez que, independente da gordura corporal total, a gordura visceral intra-abdominal é um fator de risco potencial para a doença cardiovascular[10]. A medida da circunferência abdominal (CA) é uma ferramenta muito utilizada por sua praticidade e por associar-se fortemente com a gordura corporal total e com a gordura abdominal[11]. Entretanto, é importante ressaltar que esta associação varia de acordo com a idade[12] e entre diferentes grupos étnicos. Para a população brasileira, a melhor opção para realizar o diagnóstico de sobrepeso e obesidade é provavelmente, a utilização combinada do IMC com a medida da circunferência abdominal[13]. O quadro 2 mostra o risco de complicações metabólicas em relação à avaliação combinada de IMC e medida da CA[3].

Quadro 2. Risco de complicações metabólicas em relação à avaliação combinada de Índice de Massa Corporal e Circunferência Abdominal.

Circunferência abdominal (CA) em cm			
Classificação segundo Índice de Massa Corporal (IMC)	IMC (kg/m^2)	Homem: 94-102	>102
		Mulher: 80-88	>88
Risco de complicações metabólicas			
Baixo Peso	< 18,5		
Peso Normal	18,5 – 24,9		Aumentado
Sobrepeso	25 – 29,9	Aumentado	Alto
Obesidade	>30	Alto	Muito alto
Fonte: Diretrizes Brasileiras de Obesidade (2009).			

Atualmente, estima-se que 69% da população adulta mundial tenha sobrepeso e 35% obesidade[14]. As projeções para 2015 atingem 700 milhões de pessoas[15]. Na população brasileira, dados de 2013 da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) revelaram em maiores de 18 anos residentes nas 26 capitais e Distrito Federal a prevalência de 51% para sobrepeso e 17% para obesidade. Esses números representam um aumento de 8% e 6% respectivamente em relação às prevalências de 2006. No mesmo inquérito é descrito que embora a porcentagem de pessoas

que consomem as recomendações de frutas e hortaliças tenha aumentado para 24% da população, a ingestão regular de refrigerantes e de carnes com elevado teor lipídico gira em torno de 23% e 31%. Por outro lado, 49% da população são classificados como insuficientemente ativos enquanto que a porcentagem de pessoas que pratica atividade física é de 34%, sendo mais elevada na população masculina 41% versus 27% na feminina[16].

Contudo, para melhor compreender a obesidade, é necessário considerar também que além da composição da dieta, fatores genéticos, humorais, ambientais e comportamentais interligam-se e contribuem para o balanço energético positivo e consequente ganho ponderal[17].

O controle do comportamento alimentar envolve uma rede intrincada de mecanismos que conectam a periferia ao Sistema Nervoso Central (SNC), nos quais estímulo sensoriais, sinais de fome e saciedade deflagrados por nutrientes ingeridos e peptídeos gastrointestinais são processados simultaneamente em circuitos nervosos envolvidos na determinação da homeostase energética e nos processos emocionais e motivacionais.

Dentre os sítios anatômicos relevantes para este processo, destacam-se o hipotálamo, núcleos do tronco cerebral, córtex cerebral em especial o córtex pré-frontal e as estruturas pertencentes aos circuitos de motivação e recompensa[18] .

Nos circuitos homeostáticos, hormônios secretados e nutrientes absorvidos na periferia sinalizam fome ou saciedade ao SNC. Como exemplo dessa sinalização, a presença intraluminal de ácidos graxos livres saturados estimula a secreção de peptídeos anorexígenos como a colecistoquinina (CCK), peptídeo YY (PYY) e *Glucagon like peptide 2* (GLP 2), enquando inibe a de orexígenos como a grelina[19].

Mais precisamente no hipotálamo e nos núcleos do tronco cerebral, neurônios que expressam receptores para esses sinais[17,20] modulam suas respostas em função dos níveis dessas substâncias e de aferências neuronais sobre status energético do organismo[21].

Nos neurônios do núcleo arqueado hipotalâmico (ARC), a expressão de agouti related protein (AgRP) e neuropeptídeo Y (NPY) é estimulada por mediadores orexígenos como a grelina[22] com consequente busca [23] e consumo[24] de alimentos e inibida por sinais anorexígenos como a leptina[25], insulina[26] e glicose[27]. São, portanto, neurônios essenciais para processos envolvidos no comportamento alimentar. A ligação da insulina e leptina a receptores no ARC promove a expressão do peptídeo anorexígeno proopiomelanocortina (POMC) reduzindo assim a procura por nutrientes[28].

Na ponte, o núcleo parabraquial (PBN) recebe aferências viscerais e gustatórias periféricas principalmente originárias no núcleo do trato solitário (NTS)[29,30]. Durante o jejum, tanto os neurônios POMC como os do núcleo parabraquial e os do núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) recebem eferências inibitórias dos neurônios AgRP[20], favorecendo assim a ingestão de alimentos. A interação desses grupos celulares tem sido apontada como ponto crítico para a regulação do comportamento alimentar[31].

No entanto, a distribuição de receptores de insulina, leptina e mesmo de glicose, em outros sítios do SNC além do hipotálamo, sugere haver participação desses hormônios em outros circuitos além da homeostase energética[32,33,34].

Na face medial de cada hemisfério cerebral, observa-se uma estrutura cortical anelar contínua constituída pelo giro do cíngulo, giro para-hipocampal e hipocampo denominada o lobo límbico. Em conjunto com o hipotálamo, o tálamo, o lobo límbico, por meio do circuito de Papez, está relacionado ao processamento subjetivo central da emoção e à sua expressão[35]. Corpos amigdaloides, área septal, núcleos mamilares, núcleos anteriores do tálamo e núcleos habenulares, constituem com as estruturas corticais, o sistema límbico. Sua função essencial é regular os processos emocionais e do sistema nervoso autônomo, além de participar dos processos motivacionais essenciais à sobrevivência da espécie e do indivíduo, como fome, sede e sexo.

Embora não demonstrado de forma incontestável em humanos, dois componentes dos mecanismos de recompensa têm sido descritos em animais: o "querer" e o "gostar"[36,37]. O primeiro refere-se à motivação para consumir um alimento desencadeada pela exposição a estímulos alimentares e envolve as estruturas pertencentes às vias dopaminérgicas mesolímbicas da área tegmentar ventral para o núcleo accubens. Inicialmente, a percepção dos lipídeos dietéticos, sob a forma de ácidos graxos livres, pode ser primeiramente determinada pelo sabor e textura[38]. Independente de fome ou estado motivacional, a codificação de identidade e intensidade do estímulo gustatório, é feita no córtex sensorial primário ínsula/opérculo. As informações provenientes da ínsula e do opérculo, são transmitidas ao hipocampo, à amígdala e ao córtex orbitofrontal (OFC) para integração sensorial multimodal com informações referentes à experiências prévias e aos valores hedônicos codificados[39]. Sendo os últimos envolvidos na motivação para o consumo de alimentos[40,41].

Já o "gostar" diz respeito à resposta afetiva deflagrada pelo gosto de comidas palatáveis e é associada a circuitos no núcleo accumbens e pálido ventral, hipotálamo

lateral, OFC [42, 43] e ínsula envolvendo neurotransmissores opioides, gabaérgicos e endocanabinoides[44].

O processamento das eferências de circuitos homeostáticos e de motivação e recompensa sinaliza o início, a continuação ou o término de uma refeição.

Alterações no prazer evocado por estímulos olfatórios[45,46], gustatórios[47] e visuais[48,] têm sido observadas ao se comparar voluntários em jejum e em estado alimentado. Alguns do neuropeptídeos que regulam o balanço energético no hipotálamo também modulam atividade dopaminérgica dos circuitos motivacionais[49]. Como exemplo, é descrita a ação da insulina sobre os transportadores da recaptação da dopamina (DAT) responsáveis pela inativação da sinalização dopaminérgica na fenda sináptica[50]. Assim, em situações de balanço energético negativo, os baixos níveis circulantes de leptina e insulina, diminuiriam a expressão do DAT e reforçariam a motivação para obter o alimento[51, 52, 53] ao aumentar a dopamina disponível na fenda sináptica. Por outro lado, há relatos de que o uso de insulina intranasal em humanos reduziu a ingestão alimentar[54]. Existem evidências de que a leptina também module a liberação de dopamina e atividade de neurônios dopaminérgicos[55].

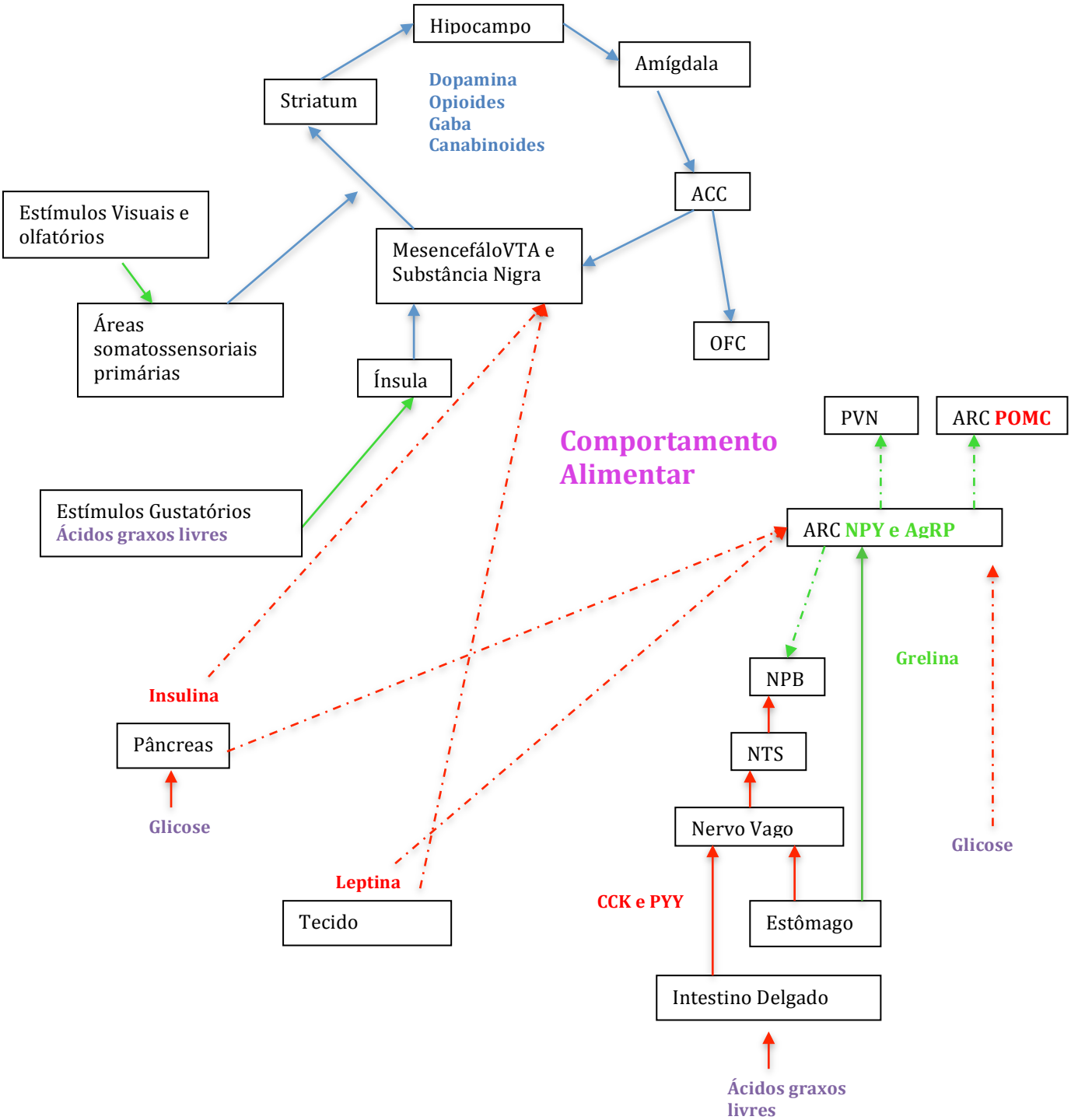

Figura 1 - Interações entre homeostase energética e circuitos de recompensa na determinação do comportamento alimentar. As estruturas em verde indicam circuitos, peptídeos e neurotransmissores orexígenos, enquanto as em vermelho anorexígenos, as em azul neurotransmissores dos circuitos de motivação e recompensa e as em roxo, macronutrientes intraluminais. As setas contínuas indicam sinapses estimulatórias e as pontilhadas inibitórias. Legenda: ACC, córtex do cíngulo anterior; ARC NPY e AgRP, neurônios NPY/AgRP do núcleo arqueado; ARC POMC, neurônios POMC do núcleo arqueado; CCK, colecistoquinina; OFC, córtex orbitofrontal; NPB, núcleo parabraquial; NTS, núcleo do trato solitário; PVN, núcleo paraventricular; PYY, polipetídeo YY; VTA, área tegmentar ventral.

A secreção de insulina pelas células eta das ilhotas de Langerhans pancreáticas em resposta à elevação da glicemia, segue padrão regular, encontrando-se em níveis baixos e estáveis entre as refeições, elevando-se para retornar a glicose para níveis basais no período pós-prandial[56]. Possui em relação direta com a adiposidade corporal, sendo maior nos indivíduos com maior proporção de massa adiposa[57]. É aceito que, no SNC, o movimento da insulina ocorra no sentido plasma-cérebro-líquido cérebro espinhal, sendo a insulina transportada de modo saturável, por meio de receptores nos capilares do endotélio cerebral[58,59]. Após cruzar a barreira hematoencefálica, liga-se a receptores dispersos no hipotálamo[60,61] e em todo o SNC[62,63,64,65,66,67], onde, tal qual a leptina, age como sinal de adiposidade[68,69] .

A leptina por sua vez, desempenha papel crucial na regulação de numerosas funções neuroendócrinas, desde a homeostase energética até a reprodução. Secretada predominantemente pelo tecido adiposo, este hormônio cruza a barreira hematoencefálica por um sistema saturável e independente de transporte atua em regiões cerebrais reguladoras do comportamento alimentar[70]. Seus receptores são encontrados em virtualmente todos os tecidos e em áreas do SNC relacionadas à alimentação como o tronco cerebral, o hipotálamo (mediobasal e ARC) e centros de recompensa. Quando em níveis elevados, como em estados de saciedade, age no hipotálamo respectivamente aumentando a expressão de POMC e reduzindo a de NPY/AgRP. Em situações em que há redução da leptinemia, como no frio ou no jejum, há estímulo à alimentação, redução do gasto energético e supressão de função reprodutiva.

Pessoas com obesidade apresentam níveis elevados leptina, sugerindo a existência de um estado de resistência às suas ações[71], seja por deficiência no transporte[72, 73, 74, 75, 76] através da Barreira Hematoencefálica ou por resposta neuronal alterada. Embora por mecanismos ainda pouco compreendidos, há evidências de que a resistência à leptina predisponha ou mesmo promova a obesidade[71], principalmente em dietas com elevado teor lipídico[77].

Ao ligar-se ao receptor da leptina, a gordura dietética pode provocar defeitos na cascata de sinalização celular desencadeada por este hormônio. As moléculas lipídicas podem ainda causar lesão neuronal tóxica[78]. Ao considerar que dietas com elevado teor lipídico são em geral mais palatáveis e que há uma maior preferência de alimentos ricos em lipídeos e carboidratos por pessoas com obesidade[79], torna-se necessário estudar os substratos anatômicos e circuitos neuronais envolvidos com a ingestão oral de lipídeos.

Para a melhor análise dessas interações (sinais periféricos e SNC) e compreensão da neurofisiopatologia da obesidade, estudos de neuroimagem funcional surgiram como

ferramentas não invasivas capazes de informar a respeito da atividade cerebral ao avaliar alterações no fluxo sanguíneo local[80,8182]. Positron emission tomography (PET), ressonância magnética funcional (fMRI) e single-photon emission tomography (SPECT) são algumas das técnicas que têm sido utilizadas para avaliar circuitos neuronais envolvidos no processamento de estímulos alimentares.

Diversos desafios alimentares têm sido empregados em trabalhos envolvendo populações com ou sem obesidade para avaliar aspectos da sensibilidade gustatória, visual e visceral envolvidos na neurofisiologia do comportamento alimentar.

Estudos com fMRI reportaram decréscimos no sinal hipotalâmico em resposta à ingestão oral de glicose[83] e ausência dessa resposta em pacientes diabéticos sem obesidade[84]. Em RNM, foi observado aumento do sinal em tronco encefálico e hipotálamo[85] após infusão intragástrica de ácido láurico em homens saudáveis.

Baseada na emissão de raios gama por fóton simples, a formação de imagens no SPECT ocorre a partir da interação da energia eletromagnética liberada no decaimento do radioisótopo com os tecidos biológicos a serem representados[86]. Para tanto é necessária a administração prévia ao paciente de radiofármacos, ou seja, substâncias compostas por um radioisótopo combinadas a um carreador. Assim, por exemplo, por meio de alterações regionais do fluxo sanguíneo cerebral detectadas por acúmulo ou redução de radiofármacos no local, o SPECT avalia aumento ou redução da atividade cerebral.

Neste contexto, o presente estudo se propõe a utilizar metodologia comprovada para avaliar modificações físicas eliciadas pela ingestão um macronutriente isolado, o lipídeo, no SNC de voluntárias com e sem obesidade. Temos como hipótese alternativa que a ingestão de lipídeos provoque alterações no fluxo sanguíneo cerebral relacionadas à obesidade. As imagens obtidas serão analisadas em conjunto com o gasto energético de repouso, dados da composição corporal e dosagens séricas de glicose, triacilglicerois, leptina e insulina das voluntárias.

2 OBJETIVOS

O presente estudo pretende atender aos seguintes pontos:

1. Identificar, por meio de SPECT, após estímulo de água e de solução lipídica, quais regiões anatômicas cerebrais são funcionalmente relacionadas à ingestão de lipídeos em pacientes com obesidade;

2. Comparar, mediante o mesmo estímulo metabólico, a perfusão cerebral de pacientes com obesidade com a de voluntários sem obesidade;

3. Correlacionar alterações do fluxo sanguíneo cerebral com a gordura corporal e os níveis séricos de glicose, triacilglicerois, insulina e leptina.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de ensaio clínico prospectivo, aleatorizado, cego e cruzado no qual imagens obtidas por SPECT foram avaliadas em busca alterações no fluxo sanguíneo cerebral regional eliciadas pela ingestão oral de uma solução composta de lipídeo e água em voluntárias com e sem obesidade. Foi realizado também, em dia diferente, outro teste com o mesmo volume e nas mesmas condições fisiológicas, apenas com água, em todas as voluntárias. No presente estudo, houve dois tipos de pareamento: 1) auto-emparelhamento de cada voluntária antes e depois do teste com solução de lipídeo e apenas água, 2) emparelhamento entre os grupos, com e sem obesidade. Tal proposta visa controlar fontes estranhas de variação que de outra maneira, poderiam influenciar os resultados da comparação[87]. Em conformidade com os aspectos éticos, o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, número 14080/2011 (Apêndice 1).

3.2 Casuística

Dois grupos de voluntárias foram incluídos neste projeto. Um composto por 10 voluntárias sem obesidade e outro por 10 voluntárias com obesidade.

3.3 Critérios de inclusão

- Ser do sexo feminino;
- Ter idade entre 18 e 40 anos;
- Apresentar ciclo menstrual regular;
- Para o grupo de obesos, ter peso corporal inferior a 120 kg e apresentar IMC entre 30 kg/m^2 e 40 kg/m^2;
- Para o grupo de não obesos, ter IMC entre 18,5 kg/m^2 e 24,9 kg/m^2.

3.4 Critérios de exclusão

- Apresentar outras comorbidades além da obesidade, inclusive psiquiátricas;
- Usar alguma medicação, exceto anticoncepcionais;

- Ser etilista, tabagista ou fazer uso de drogas ilícitas;
- Estar grávida ou planejar gravidez durante o ensaio;
- Estar em vigência de tratamento para obesidade;

3.5 Recrutamento

Para o grupo de voluntárias com obesidade, o recrutamento ocorreu por meio de anúncios em veículos de comunicação como rádio, televisão e site da internet de propriedade da Universidade de São Paulo – Campus Ribeirão Preto. O processo de recrutamento foi mediado pelo Departamento de Acessoria Jurídica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP).

Para o grupo sem obesidade, além dos meios supracitados, também foi solicitado às voluntárias com obesidade que indicassem voluntária sem obesidade, caso dispusessem de pessoa em sua comunidade, sem grau de parentesco, que atendesse aos critérios de inclusão.

No período de fevereiro de 2012 a agosto de 2013, 211 mulheres foram convidadas, por contato telefônico, a participar da pesquisa. Durante este primeiro contato, foi feita uma primeira triagem. Estando a paciente apta, a mesma era convidada a comparecer ao HCFMRP para entrevista clínica, exame físico, coleta de sangue para exames bioquímicos e reforço das explicações a respeito do projeto já fornecidas previamente durante o primeiro contato telefônico. Somente sendo aprovadas nesta segunda etapa de triagem, as pacientes tornavam-se elegíveis para a pesquisa.

Das 211 voluntárias entrevistadas, 101 souberam do projeto por meio de propaganda em mídia televisiva, 24 por meio de terceiros, 21 por meio da internet, 3 por panfletos e 1 por rádio, 61 por contato telefônico. Das 211 voluntárias, 16 relataram peso e estatura compatíveis com IMC entre 18,5 e 24,9 kg/m^2, 168 relataram peso e altura para IMC > 30kg/m^2 e 1 voluntária relatou peso e altura compatível com IMC< 18,5 kg/m^2. Em 26 pacientes, suas medidas as classificavam na faixa de sobrepeso, ou seja, IMC entre 25 e 29,9kg /m^2.

Do total de 211 mulheres, foram descartadas 154 pessoas durante o primeiro contato telefônico, das quais 127 eram obesas, 26 apresentaram sobrepeso e 1 apresentava IMC<18,5 kg/m^2. As causas para exclusão de 127 obesas foram:

- IMC superior a 40 kg/m^2 (44 casos);
- Peso superior a 120 kg (7 casos);

- Uso de medicação (13 casos);
- Doença prévia (25 casos);
- Idade superior a 40 anos (27 casos);
- Idade inferior a 18 anos (2 casos);
- Irregularidade menstrual (9 casos);
- Horário incompatível (1 caso);
- Residência fora de Ribeirão Preto (11 casos);
- Outros motivos (23 casos).

As doenças prévias referidas foram: Diabetes Mellitus tipo 2 (6 casos), Hipertensão Arterial Sistêmica (6 casos), Dislipidemia (3 casos), Doença Hepática (1 caso), Pós-operatório de Cirurgia Bariátrica (1 caso), Doença Psiquiátrica (2 casos), Tabagismo (3 casos), Tireoidopatia (5 casos), Ovário Policístico (2 casos).

Os outros motivos referidos compreenderam: não concordância do companheiro, parentesco de 1º grau com outra voluntária, tratamento atual para obesidade ou indisponibilidade ao contato telefônico. Nota-se que a somatória de todos os motivos para o descarte extrapola o número total de voluntárias descartadas porque algumas pessoas apresentavam mais de uma das razões descritas.

Com isso, 57 entrevistadas foram convidadas a comparecer ao HC para participar da segunda etapa da triagem. Até então, 41 voluntárias classificavam-se com obesidade e 16 sem obesidade. Após esta etapa, restaram 13 com obesidade e as 15 sem obesidade.

Os motivos para o exclusão, nesta segunda etapa da triagem, das 28 voluntárias com obesidade e 1 previamente classificada como sem obesidade foram:

- Tireoidopatia (1 caso);
- Sobrepeso (4 casos);
- Hipertensão arterial (4 casos);
- Dislipidemia (5 casos);
- Glicemia de jejum alterada e/ou intolerância à glicose (2 casos);
- Obesidade (1 caso – a paciente não obesa);
- Outros (12 casos).

Os outros motivos foram: desistência, irregularidade menstrual, residência fora de Ribeirão Preto e tabagismo.

Das vinte e oito selecionadas, desistiram cinco mulheres sem obesidade antes do início do projeto e três com obesidade durante a realização do mesmo.

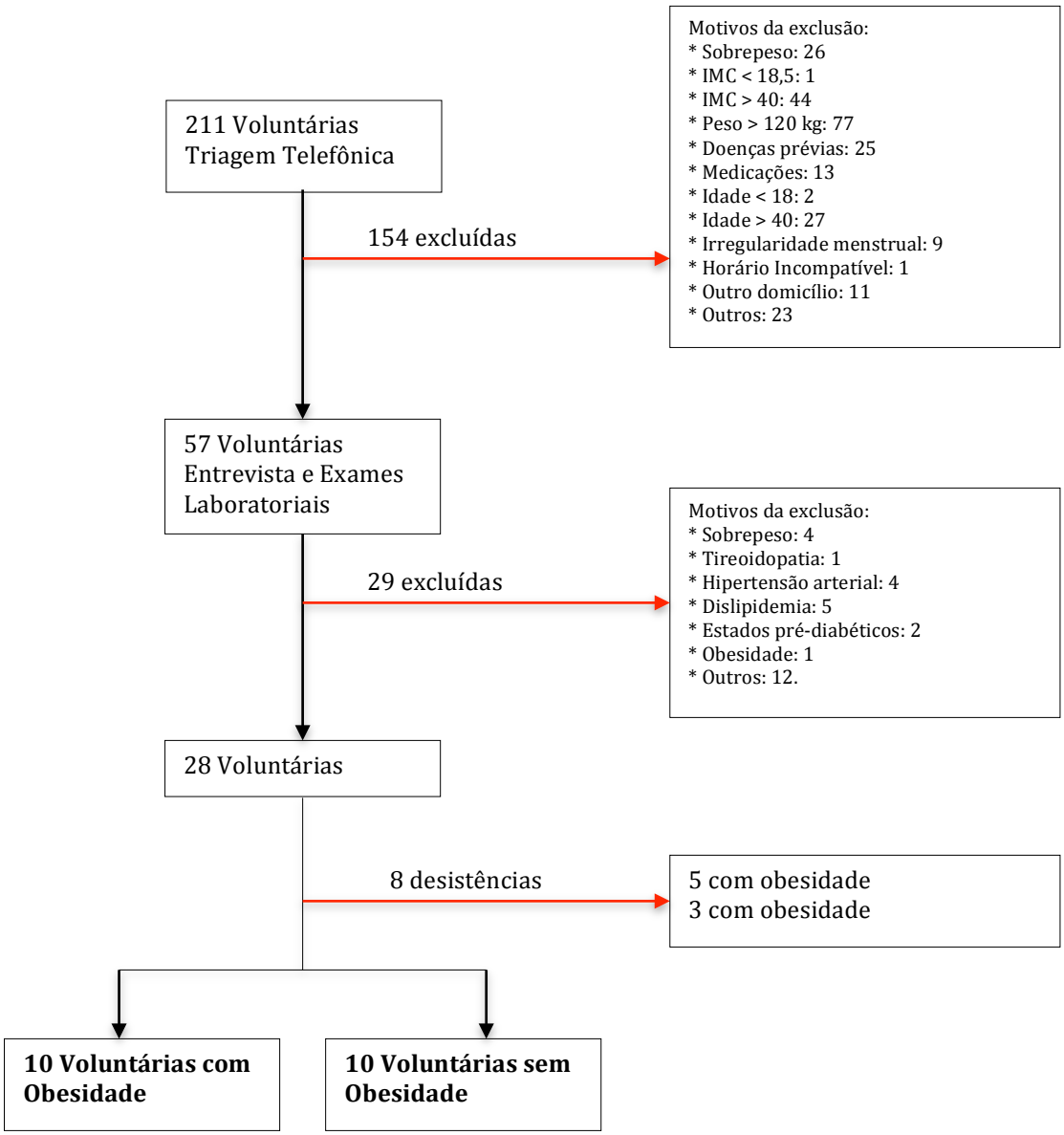

Figura 2. Fluxograma sobre o processo de recrutamento de voluntárias.

3.6 Protocolo de Pesquisa

Previamente à seleção das participantes, a ordem em que cada uma receberia água e lipídeo foi aleatorizada, por meio de sorteio, usando uma mesma moeda, onde "cara" significava água e "coroa" lipídeo. Dessa forma, à medida que eram incluídas na pesquisa, cada voluntária assumia um código em ordem crescente (OBES1, OBES2, OBES3 ou NOBES1, NOBES2, NOBES3 por exemplo), cuja ordem dos desafios alimentares já estava estabelecida.

No dia anterior à realização dos SPECTs, as voluntárias foram orientadas a não ingerir café, bebidas alcoólicas, chocolate e chá, além de iniciar jejum a partir das 22 horas. Portanto, considerando que os testes foram realizados no período vespertino, planejou-se um período mínimo de jejum de 12 horas antes do desafio alimentar com solução lipídica ou água.

Entre 12 de março de 2012 a 16 de setembro 2013, de acordo com a disponibilidade de vagas na enfermaria do Serviço de Nutrologia e da Unidade de Pesquisa Clínica do HCFMRP, as voluntárias foram admitidas na data da realização dos testes. Todos os SPECTs foram realizados durante fase luteínica do ciclo menstrual das voluntárias. Em torno de 8 horas da manhã, as voluntárias eram admitidas na enfermaria e assinavam o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 2). Após aferição do peso, as pacientes permaneciam em repouso por trinta minutos, para então se submeterem à calorimetria indireta[88] com aparelho de modelo QUARK-RMR, Cosmed®, Itália. Em seguida, era realizado exame clínico e análise da composição corporal por meio da bioimpedância elétrica com o aparelho Biodynamics®, modelo 450, frequência fixa de 50 kHz[89,90]. No primeiro dia dos testes, foi solicitado às voluntárias que preenchessem Questionário de Lateralidade[91].

Às 12 horas, era obtido acesso venoso periférico calibroso geralmente em veia cubital. Cinco mL de solução salina fisiológica 0,9% foram utilizados para manter pérvio o acesso puncionado durante todo o protocolo.

De acordo com a ordem pré-estabelecida por "cara" ou "coroa" para cada voluntária incluída, as participantes ingeriam 300 mL água ou solução isovolumétrica contendo 60 gramas de lipídeo. A solução lipídica foi constituída de 180 mL de água e 120 mL de um suplemento alimentar sem sabor composto por triglicérides de cadeia longa, sendo 56% de óleo de canola e 44% de óleo de girassol (Calogen®, Support Advance Medical Nutrition, Brasil). Cada 100 mL do produto fornecem 450 kcal sob a forma de 50 g de gordura sendo 61% de gordura monoinsaturada, 29% de poliinsaturada e 11%. de saturada. Todas as voluntárias receberam água e solução lipídica, em momentos distintos.

Às 13 horas, as voluntárias eram encaminhas à Seção de Medicina Nuclear do HCFMRP. A administração do desafio aconteceu 60 minutos antes da injeção do radiofármaco, objetivando que concomitante à sua administração tivéssemos elevação de triglicerídeos circulantes[92]. Ou seja, propôs-se estudar as imagens no momento de potencial estimulatório ou inibitório por parte da ingestão de lípides.

Na Seção de Medicina Nuclear do HCFMRP, após a ingestão de água, seguia-se um repouso de trinta minutos que antecedia à administração do radiofármaco. No dia da solução lipídica, este repouso iniciava-se trinta minutos após a ingestão da solução. O repouso consistia em um período de 30 minutos, permanecendo a voluntária em decúbito dorsal, em local isolado e em silêncio, com os olhos abertos e na penumbra, sendo restritas a fala e a audição, para evitar ou atenuar os efeitos de estímulos cognitivos ambientais.

Após o repouso, portanto após 60 minutos da ingestão lipídica e 30 minutos após a ingestão de água, os tecnólogos em medicina nuclear entravam silenciosamente no recinto e administravam a dose de 1.295 MBq (35 mCi) do radiofármaco ^{99m}Tecnécio associado ao Ethyl Cysteinate Dimer (^{99m}Tc-ECD) por meio do acesso venoso previamente puncionado. Este radiofármaco foi previamente preparado marcando-se o fármaco Ethy Cysteinate Dimer (ECD) com o radioisótopo ^{99m}Tecnécio (^{99m}Tc), eluído de um gerador estéril fornecido pelo Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares/Comissão Nacional Energia Nuclear do Ministério de Ciência e Tecnologia.

A partir de uma hora após a injeção do radiofármaco era realizado o SPECT. As imagens obtidas de voluntárias com obesidade (OBES) no dia do teste com água foram classificadas como OBES_X_A, enquanto as do teste com lipídeo, como OBES_X_L. Sendo X o número da voluntária. O estudo foi então cego para o avaliador das imagens que não soube qual o desafio empregado em cada imagem. Para as voluntárias sem obesidade (NOBES), foi feito semelhante protocolo sendo as imagens denominadas NOBES_X_ A (para o teste com água) e NOBES_X_L(para o teste com lipídeo). Portanto, de igual modo, as voluntárias sem obesidade realizaram dois estudos em momentos distintos, com água e solução lipídica, em um teste cego e aleatorizado. As imagens foram armazenadas em servidor computacional e em formato DICOM 3.0, para serem utilizadas nos processamentos computacionais que permitiram as quantificações comparativas entre o grau de ativação cerebral obtido com água versus solução lipídica.

Em cada dia de teste com SPECT, foram coletadas cinco amostras sangüíneas para dosagem laboratorial de glicose, insulina, leptina e triacilglicerois. A primeira coleta foi realizada imediatamente antes da administração do desafio alimentar (tempo 0) e a seguir por

mais quatro vezes com intervalos de trinta minutos entre cada coleta (tempos 30, 60, 90 e 120 minutos). Dos 15 mL, volume total de sangue aspirado em cada tempo, 5 mL foram transferidos para um tubo de coleta BD Vacutainer® NaF 6.0mg Na_2EDTA 12 mg, de tampa cinza, para dosagem de glicemia. Os 10 mL restantes foram divididos entre dois tubos de coleta BD Vacutainer® ativador de coágulo, de tampa vermelha. Um destinado às dosagens de insulina e leptina e o outro a de triacilglicerois. Os tubos utilizados foram previamente codificados conforme apêndice 3. As amostras foram mantidas em caixa contendo gelo, própria para amostra de materiais.

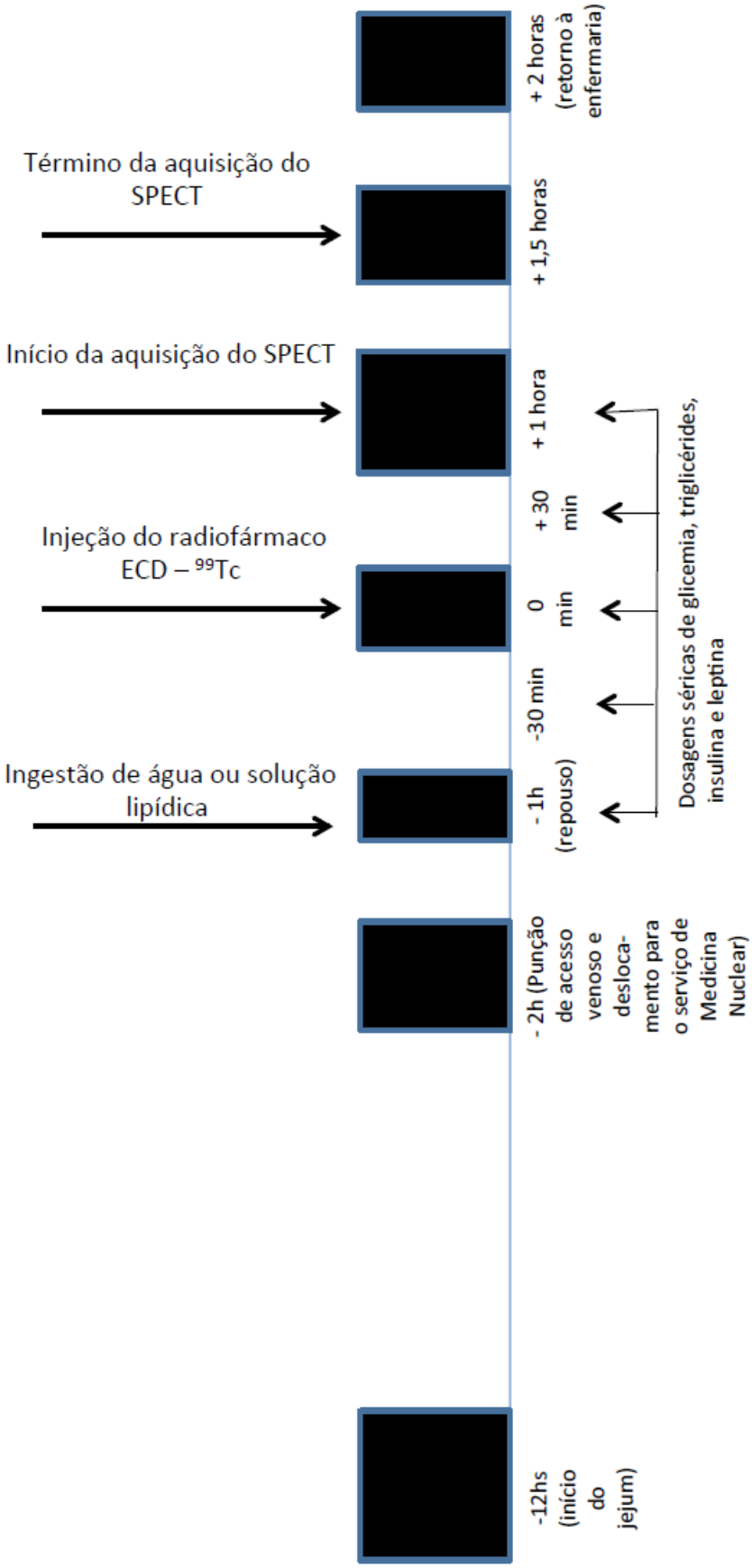

Figura 2: Linha do tempo da realização do protocolo de pesquisa.

Após retornarem à enfermaria, cerca de 3 ou 4 horas depois, as voluntárias ingeriam um lanche e recebiam alta hospitalar. Uma segunda internação para a repetição do protocolo com o segundo desafio era programada.

Após o término da participação no estudo, as pacientes com obesidade receberam orientações quanto à reeducação alimentar e foram referenciadas à rede pública de saúde, para seguimento no Ambulatório de Nutrologia da Prefeitura de Ribeirão Preto.

3.7 Dosagens laboratoriais

Ao término da última coleta de cada dia de teste, no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Clínica Médica, os tubos eram centrifugados por 15 minutos a 5000 rpm e a 24°C para separação dos hemocomponentes. O soro foi extraído com uso de pipeta, armazenado em microtubos Safe-Lock Tubes 1,5 ml Eppendorf Tubes® e mantido congelado a – 80° C.

As amostras destinadas à mensuração de glicose e triglicérides, após descongeladas, foram dosadas por método de fotometria, respectivamente com os kits Glicose Liquiform® e Triglicérides Liquiform®, Labtest - Lagoa Santa, Brasil.

As amostras destinadas à mensuração de insulina e leptina foram dosadas por metodologia Luminex® xMAP® que envolve o uso microesferas magnéticas marcadas com fluorescência denominadas MagPlex TM -C microspheres com o emprego de kits EMD Millipore's MILLIPLEX ® Human Metabolic Hormone Magnetic Bead Panel, HMHMAG-34K-08, Merck Millipore, EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA.

3.8 Aquisição das Imagens

As imagens de SPECT cerebral foram adquiridas em uma gama-câmara BrigthView XCT (modelo EBW), composta por duas cabeças detectoras formadas por cristais de NaI(Tl), equipada com colimador de baixa energia e alta resolução (low energy and high resolution), com fotopico para o isótopo ^{99m}Tc centrado em sua energia característica de 140keV e janela de aceitação de 20%.

Cada imagem foi adquirida a partir de 128 projeções (64 por detector) em uma matriz de 128x128, com uma rotação de 180° de cada detector. Foi utilizada uma magnificação (zoom) de 2x e um tempo de aquisição de 30 minutos totalizando aproximadamente 100.000 contagens por projeção.

3.9 Reconstrução tomográfica

As imagens foram reconstruídas em uma Workstation Philips EBW (Philips Healthcare, Cleveland, Ohio, EUA) por meio do método denominado OSEM (Ordened-

subset Expectation Maximization) implementado com um algoritmo iterativo de reconstrução. Foram utilizados 8 subsets e 3 iterações para a reconstrução das imagens. Todas as imagens foram corrigidas para os efeitos de atenuação dos fótons de raio gama com a matéria através do método de Chang de primeira ordem (Chang's Method, no qual ele sugere utilizar um coeficiente de atenuação linear de 0,11 cm^{-1}) (Apêndice 4) e que trata o meio corrigido como sendo um meio homogêneo. Todas as imagens foram amaciadas a partir de um filtro Berworth de 9ª ordem e frequência de corte 0,14 ciclos/mm (frequência de Nyquist).

3.10 Processamento das imagens

Ao fim da etapa de reconstrução das imagens, elas foram salvas em um formato DICOM 3.0, porém, por problemas de compatibilidade, para as etapas seguintes foi utilizado o software para visualização de imagens médicas MRIcro (desenvolvido por Chris Rorden, Neurophychology Lab, Columbia SC, USA).

O Statistical Parametric Mapping (SPM) versão 8 é uma ferramenta amplamente utilizada em análises de dados através da inferência estatística aplicada no campo da neuroimagem funcional e imagem molecular. Para que a extração dos dados do conjunto de imagens de SPECT cerebral fosse realizada com sucesso, foram realizadas as seguintes etapas de processamento: Transformação Espacial, Normalização do Sinal e Extração dos Dados (Marsbar).

3.11 Transformação Espacial

A fim de garantir que todas as imagens analisadas ocupassem a mesma posição espacial, baseada em um espaço anatômico padrão conhecido, algumas etapas de pré-processamento foram indispensáveis: reorientação, realinhamento, normalização espacial, filtragem por máscara binária e frequência.

<u>Reorientação</u>

Todas a imagens tiveram as suas coordenadas de origem no Espaço Euclidiano (0,0,0) realocadas para o mesmo ponto de referência, a Comissura Anterior. Isto garantiu que todas elas passassem a ter o mesmo ponto de origem (ou próximo a ele, devido a problemas de localização anatômica).

Realinhamento

Para evitar artefatos de movimento que pudessem implicar em erros sistemáticos na sua análise, foi realizado o realinhamento de imagens do mesmo paciente obtidas em dias diferentes, utilizando três parâmetros translacionais e três rotacionais de transformação.

Normalização Espacial

Para deformar cada uma das imagens inseridas, foi aplicada uma transformação de corpo rígido (*affine*) que utilizou 12 parâmetros definidos. Cada transformação foi realizada de forma individual, baseada em um mesmo espaço padrão anatômico (MNI – *Montreal Neurological Institute*) através de um template de SPECT cerebral fornecido pelo próprio SPM. As novas imagens foram normalizadas utilizando uma bounding box de 2,0 x 2,0 x 2,0 mm^3 com interpolação através de uma *bspline* de 7ª ordem.

Aplicação de Máscara Binária

Com o objetivo de eliminar qualquer vestígio de radiação espalhada além da calota craniana foi aplicada uma máscara binária, com as mesmas dimensões da bounding box utilizada, sobre todas as imagens.

Amaciamento

A etapa final neste processamento de *2º level* foi o amaciamento de todas as imagens através de um filtro kernel Gaussiano com FWHM (full-width at half maximum) 12 x 12 x 12 mm para eliminar qualquer sinal de alta frequência remanescente.

3.12 Modelos de Inferência

Foram utilizados dois modelos de inferência para a análise dos dados que melhor representassem os efeitos de interesse:

1. Teste t para amostras independentes:
   a. Grupo OBES versus Grupo NOBES, após ingestão de água;
   b. Grupo OBES versus Grupo NOBES, após ingestão de lipídeo.
2. Teste t para dados emparelhados:
   a. Grupo NOBES, ingestão de lipídeo versus a ingestão de água;
   b. Grupo OBES, ingestão de lipídeo versus a ingestão de água.

O pré-processamento realizado garantiu que todas as imagens apresentassem características localizatórias espaciais similares, isto é, que cada voxel analisado possuísse o seu correspondente, de similar orientação localizatória, em cada imagem presente no modelo de inferência construído.

Para a extração dos dados de cada uma das imagens foi utilizada uma toolbox incorporada ao software SPM denominada Marsbar desenvolvida na plataforma MATLAB. Juntamente ao Marsbar foi possível normalizar a intensidade do sinal de cada uma das imagens para uma escala proporcional a média global de 80% de todo o sinal presente na imagem (*threshold 0,8*) e ponderado por um fator fisiológico de 50 ml/min/100g (fluxo sanguíneo em 100g de tecido cerebral a cada minuto).

Por se tratar de uma análise exploratória, foi utilizada um valor *threshould* de p=0.05 não corrigido com um *threshould* para tamanho de cluster de k=125 voxels. Logo a nossa análise selecionou apenas os clusters que sobreviveram a esta análise de inferência com valores de p<0.05 (Family Wise Error - FWE), tanto para um nível de cluster quanto para um nível de pico. Todos os resultados foram corrigidos para pequenos volumes (small volumes correction - SVC).

3.13 Extração de Dados

Os clusters, agrupamentos de neurônios, que apresentaram evidências da existência de diferenças perfusionais entre os grupos construídos para cada modelo foram utilizados para construir ROIs (*region of interest)* e auxiliar na extração do sinal de contagens médias por voxels de todas as imagens de SPECT utilizadas para esta investigação.

3.14 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio do software Stata/IC versão 11.2 Stata Corp LP, EUA. Todas as variáveis foram sumarizadas por meio de tabelas de distribuição de frequência, bem como representadas em gráficos, como Box Plot, histograma e Normal Probability Plot para detecção de dados atípicos e da distribuição dos dados. Para os testes de hipótese, o nível de significância foi fixado em 5%. Na etapa de análise descritiva dos dados foi utilizado teste t para as variáveis com distribuição próxima à Normal ou seu equivalente não paramétrico, o teste da soma dos postos de Wilcoxon. ANOVA para medidas repetidas foi utilizada para testar diferenças entre médias das fases triagem, água e lipídeo do estudo.

Também foi utilizada para testar diferenças entre as médias de glicemia, trigliceridemia, insulinemia e leptinemia entre os cinco tempos de coleta de cada fase do estudo. Correlações lineares entre a atividade cerebral (intensidade do sinal em contagens médias por voxel) e glicemia, trigliceridemia, insulinemia, leptinemia e gordura corporal foram avaliadas pelo Coeficiente de Correlação de Pearson *(r)*. A fim de normalizar a distribuição de determinadas variáveis, transformações logarítmicas e inversas foram realizadas.

4 RESULTADOS

4.1 Análise descritiva

Ao fim da triagem, das 20 voluntárias selecionadas, uma era sinistra, uma ambidestra, sendo as 18 restantes destras. Os dados coletados nas 20 voluntárias estão disponíveis no Apêndice 5. Os grupos OBES e NOBES apresentaram respectivamente diferenças nas seguintes variáveis descritas em média (desvio padrão) ou mediana (intervalo interquartil) no quadro 3: peso, índice de massa corporal, pressões arteriais sistólica e diastólica, HDL-colesterol, hormônio tireoestimulante (TSH), e nas glicemias dos tempos 0 e 120 minutos do teste oral de tolerância à glicose.

Quadro 3. Características dos grupos sem e com obesidade em média (desvio padrão) ou mediana (intervalo interquartil).

Variáveis	**NOBES (n = 10)**	**OBES (n = 10)**	***p***
Idade (anos)	30 (5.0)	30.1 (6.0)	0.97
Exame físico			
Peso (kg)	58.7 (8.1)	91.9 (7.3)	0.00
Altura (m)	1.67 (0.06)	1.63 (0.05)	0.15
IMC (kg/m^2)	21.1 (1.7)	34.7 (2.8)	0.00
Pressão sistólica (mmHg)[#]	110 (100; 116)	120 (110; 128)	0.04
Pressão diastólica (mmHg)	64.2 (9.7)	73.6 (8.2)	0.03
Exames de sangue			
Colesterol total (mg/dL)	170.8 (34.8)	172.2 (19.4)	0.91
Triglicérides (mg/dL)	78.8 (30.2)	84 (30.9)	0.71
HDL-colesterol (mg/dL)	53.2 (12.8)	39.1 (6.2)	0.01
LDL-colesterol (mg/dL)	103.9 (28.1)	116.2 (12.5)	0.22
Ureia sérica (mg/dL)	24.6 (3.8)	24.1 (4.4)	0.79
Creatinina sérica (mg/dL)	0.7 (0.11)	0.8 (0.09)	0.13
AST (IU/L)	18.4 (4.4)	16.9 (6.8)	0.59
ALT (IU/L)	16.1 (9.3)	22.4 (18.2)	0.35
Fosfatase alcalina (IU/L)	136.5 (47.2)	148.1 (34.1)	0.54
TSH (μIU/mL)[#]	1.3 (1.04; 1.39)	1.7 (1.4; 2.04)	0.04
GTT 0 (mg/dL)	81.9 (7.9)	90.6 (5.2)	0.01
GTT 120 (mg/dL)	83.7 (13.6)	99.6 (18.4)	0.04

Legenda:
α = 0,05.
#Mediana
NOBES, voluntárias sem obesidade; OBES, voluntárias com obesidade; IMC, índice de massa corpórea; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase;
Colesterol total, Triglicérides, LDL e HDL (frações de baixa e alta densidade das lipoproteínas carreadoras de colesterol no sangue, respectivamente); GTT, teste oral com 75 gramas de glicose; GTT0, tempo 0 minutos e GTT120, tempo 120 minutos ambos em mg/dL; FA, fosfatase alcalina; GGT, gama glutamil transferase; TGO, transaminase glutâmico oxaloacética; TGP, transaminase glutâmico pirúvica; TSH, Hormônio estimulante da tireoide.

Em uma avaliação intragrupo, nos dois grupos, não houve diferenças entre peso, IMC e pressão arterial entre o início da pesquisa e as fases subsequentes (quadro 4).

Quadro 4. Peso, Índice de Massa Corporal e Pressão Arterial nas fases de triagem e com ingestão de lipídeo ou água em média (desvio padrão).

	NOBES (n = 10)			OBES (n = 10)		
Variável	**Triagem**	**Lipídeo**	**Água**	**Triagem**	**Lipídeo**	**Água**
Peso (kg)	58,7 (8,2)	58,7 (8,1)	58,7 (7,8)	91,9 (7,3)	91,5 (6,7)	91,6 (6,4)
IMC (kg/m^2)	21,1 (1,72)	21,1 (1,7)	21,1 (1,6)	34,7 (2,8)	34,6 (2,5)	34,6 (2,5)
PAS (mmHg)	106,8 (13,1)	107,8 (8)	101,2 (10,2)	117,8 (12,1)	122 (19,3)	111 (7,4)
PAD (mmHg)	64,2 (9,7)	67,5 (8,9)	66,2 (9,2)	73,6 (8,2)	73,3 (9,9)	74 (8,4)

Legenda: NOBES, voluntárias sem obesidade; OBES, voluntárias com obesidade; IMC, Índice de Massa Corporal; PAS, Pressão Arterial Sistólica; PAD, Pressão Arterial Diastólica; DP, desvio-padrão. ANOVA para medidas repetidas. $\alpha = 0,05$.

Em relação ao gasto energético e demais dados da calorimetria indireta assim como os referentes à composição corporal, houve diferença entre os grupos nas variáveis: volume de O_2 consumido (VO_2), volume de CO_2 produzido (VCO_2), gasto energético de repouso (GER), resistência (R), reactância (Xc) e gordura corporal (BF). No entanto, a comparação intragrupo das mesmas variáveis entre as fases lipídeo e água não mostrou diferenças (quadro 5).

Conforme apresentado no quadro 6, em ambos os dias de testes não houve diferença entre médias de glicemias das voluntárias com e sem obesidade nos cinco tempos coletados. Houve diferença entre as glicemias nos tempos 30 e 60 minutos entre o grupo OBES e NOBES no dia de teste com água. O grupo OBES apresentou diferença entre as médias de glicemias dos dois dias de testes aos 120 minutos.

Em relação à trigliceridemia, após a ingestão da solução lipídica, as voluntárias sem e com obesidade atingiram as maiores médias aos 120 minutos, 102 e 91 mg/dL, respectivamente. Não houve diferença entre os grupos OBES e NOBES. No dia de testes com água, não houve diferença entre as médias de trigliceridemia dos cinco tempos.

Quadro 5. Calorimetria e bioimpedância elétrica por grupo e fase, em média (desvio padrão).

	NOBES (n = 10)		OBES (n = 10)	
Variável	**Lipídeo**	**Água**	**Lipídeo**	**Água**
Vo_2 (mL/min)	188 (21,2)** [a]	185 (25,6)* [a]	229 (21,7)	219 (39,9)
Vco_2 (mL/min)	153 (23,4) ** [a]	137[#] (31,6) * [a]	186 (19,8)	173,1 (33,4)
QR	0,81 (0,08)	0,74 (0,15)	0,81 (0,08)	0,8 (0,16)
GER (Kcal/dia)	1296 (149,7)**[a]	1253 (176,1) *[a]	1578 (140,3)	1501 (242,7)
R (ohms)	627 (33,5) ** [a]	638 (37,6) ** [a]	521 (419,3)	529 (55,3)
Xc (ohms)	72 (7,4) * [a]	71 (5,3)	66 (6,21)	68.4 (8,7)
BF (kg)	17 (5,1)** [a]	17 (4,9) ** [a]	38 (3,1)	38 (2,4)

α =0,05
Legenda: * p < 0,05 ** p <0,01.
[#] n = 9, após exclusão de uma observação (valor atípico = 0,35)
[a] Teste t para amostras independentes. Comparação entre grupos em uma mesma fase.
NOBES, grupo de mulheres sem obesidade; OBES, grupo de mulheres com obesidade,Vo_2, Volume de O_2 consumido; Vco_2, Volume de CO_2 produzido; QR, quociente respiratório; GER, gasto energético em repouso; R, resistência; Xc, reactância; BF, body fat em kg; DP, desvio-padrão.

A análise das dosagens de insulina revelou que houve diferença entre as médias dos cinco tempos exceto no teste com água no grupo OBES. Nos tempos 30, 90 e 120 minutos houve diferença entre as médias do grupo NOBES entre as fase água e lipídeo. No grupo OBES essa diferença só foi observada aos 30 minutos. Também aos 30 minutos, também foi observada diferença na comparação entre os grupos OBES e NOBES após o teste com lipídeo. No dia do teste com água, houve diferença entre os grupos em todos os tempos.

A análise das dosagens de leptina revelou que houve diferença entre as médias apenas grupo OBES em ambas as fases. No tempo 30 minutos houve diferença entre as médias do grupo NOBES entre as fase água e lipídeo. No grupo OBES essa diferença só foi observada aos 60 minutos. Diferenças na comparação entre os grupos OBES e NOBES após o teste com lipídeo e no dia do teste com água, foram observadas em todos os tempos (quadro 6).

Não houve diferença entre as médias de glicemias em ambos os grupos e em ambas as fases.

Quadro 6. Médias (desvio padrão) de insulina, leptina, triglicérides e glicose séricas por grupo e fase.

		NOBES (n = 10)		OBES (n = 10)	
Fase	**Tempo**	**Lipídeo**	**Água**	**Lipídeo**	**Água**
Insulina (µUI/mL)	0'	3,6 (2,1)	2,68 (1,7)* [c]	5,0 (2,3)	5,9 (1,3)
	30'	5,6 (1,4)** [b]	1,77 (1,1)* [a j]	9,2 (1,7)* [c]	3,3 (1,2)[#] * [b c]
	60'	2,7 (1,7)* [a i]	3,06 (1,6)* [c]	3,4 (2,3)* [a l]	6,4 (1,3)
	90'	4,6 (1,3)* [b]	2,05 (1,5)* [c]	6,4 (1,8)	5,4 (1,2)
	120'	4,1 (1,5)* [b]	2,6 (1,4)* [c]	7,4 (2,6)	4,8 (1,1)
Leptina (ng/mL)	0'	3,6 (2,2)** [c]	3,2 (2,8)** [c]	12 (2,5)	15,1 (2)
	30'	3,7 (2,2)* [b]	2,5 (2,5)** [c]	15,6 (2,3)** [c]	10,7 (1,8)* [a e.f]
	60'	2,9 (2)** [c]	1,8 (7,2) ** [c]	6,8 (1,7)* [a d]	15,2 (2)* [b]
	90'	3,5 (2,1) ** [c]	2,5 (3,3) ** [c]	11,2 (2)	12,4 (2,3)*
	120'	3,4 (2) ** [c]	2,5 (2,7) ** [c]	9,4 (1,18)	11,7 (2,2)
Triglicérides (mg/dL)	0'	73,5 (25,4)* [a g]	76,9 (27,7)	79 (21)	79 (34)
	30'	75,7 (28,9)* [a h]	72,4 (23,3)	84 (23)	78 (34)
	60'	79,3 (24)* [a h]	75,4 (26,3)	74 (21)* [a h]	81 (29)
	90'	89,3 (31,1)	81,2 (29,3)	86 (23)	78 (30)
	120'	102 (36,9)	81,1 (27,2)	91 (33)	80 (34)
Glicose (mg/dL)	0'	76 (8,2)	73 (8)	77,6 (8)	77,9 (11,5)
	30'	77,2 (6,5)	75 (5,4)** [c]	79,7 (4)	81,1 (3,5)
	60'	73,8 (5,5)	75,5 (7,3)* [c]	75,2 (8.8)	79,8 (4,1)
	90'	74,6 (6,7)	76,4 (7,4)	89,3 (6,0)	79,8 (5,3)
	120'	72,2 (8,7)	76,4 (9,1)	74,2 (8,4)* [b]	83,4 (5,2)

Legenda:
NOBES, grupo de mulheres sem obesidade; OBES, grupo de mulheres com obesidade.
Para insulina e leptina, as médias e desvios padrão (DP) foram transformados para a escala original após testes em escala logarítmica. Os tempos 0', 30', 60', 90' e 120' referem-se às coletas de sangue ocorridas 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após a ingestão de lipídeo ou água
$\alpha = 0,05$.
*Valor $p < 0,05$.
**Valor $p < 0,01$.
[#] n = 9 observações.
[a] ANOVA para medidas repetidas. Comparação intragrupo, entre os cinco tempos de coleta de cada fase.
[b] Teste t para dados emparelhados. Comparação intragrupo, entre as fases lipídeo e água, para um mesmo tempo de coleta.
[c] Teste t para amostras independentes. Comparação entre grupos, em um mesmo tempo e fase.
[#] n = 9 observações.
[a] Comparação intragrupo, entre os cinco tempos de coleta de cada fase.
[b] Comparação intragrupo, entre as fases lipídeo e água, em um mesmo tempo.
[c] Comparação entre grupos, em um mesmo tempo e fase.
[d] Inferior aos tempos zero 0 e 30 minutos.
[e.] Inferior ao tempo 0 minuto.
[f] Inferior ao tempo 60 minutos.
[g].Inferior aos tempos 60 e 120 minutos.
[h]. Inferior ao tempo 120 minutos.
[i]. Inferior aos tempos 30 e 90 minutos
[j]. Inferior aos tempos 0, 60, 90 e 120 minutos.
[l]. Inferior ao tempo 30 minutos.

4.2 Grupos OBES x NOBES, após ingestão de água

Em mulheres com obesidade em relação àquelas sem obesidade após ingestão de água, a análise por cluster mostrou maior perfusão cerebral em um aglomerado de 19328 voxels distribuídos nas seguintes áreas:

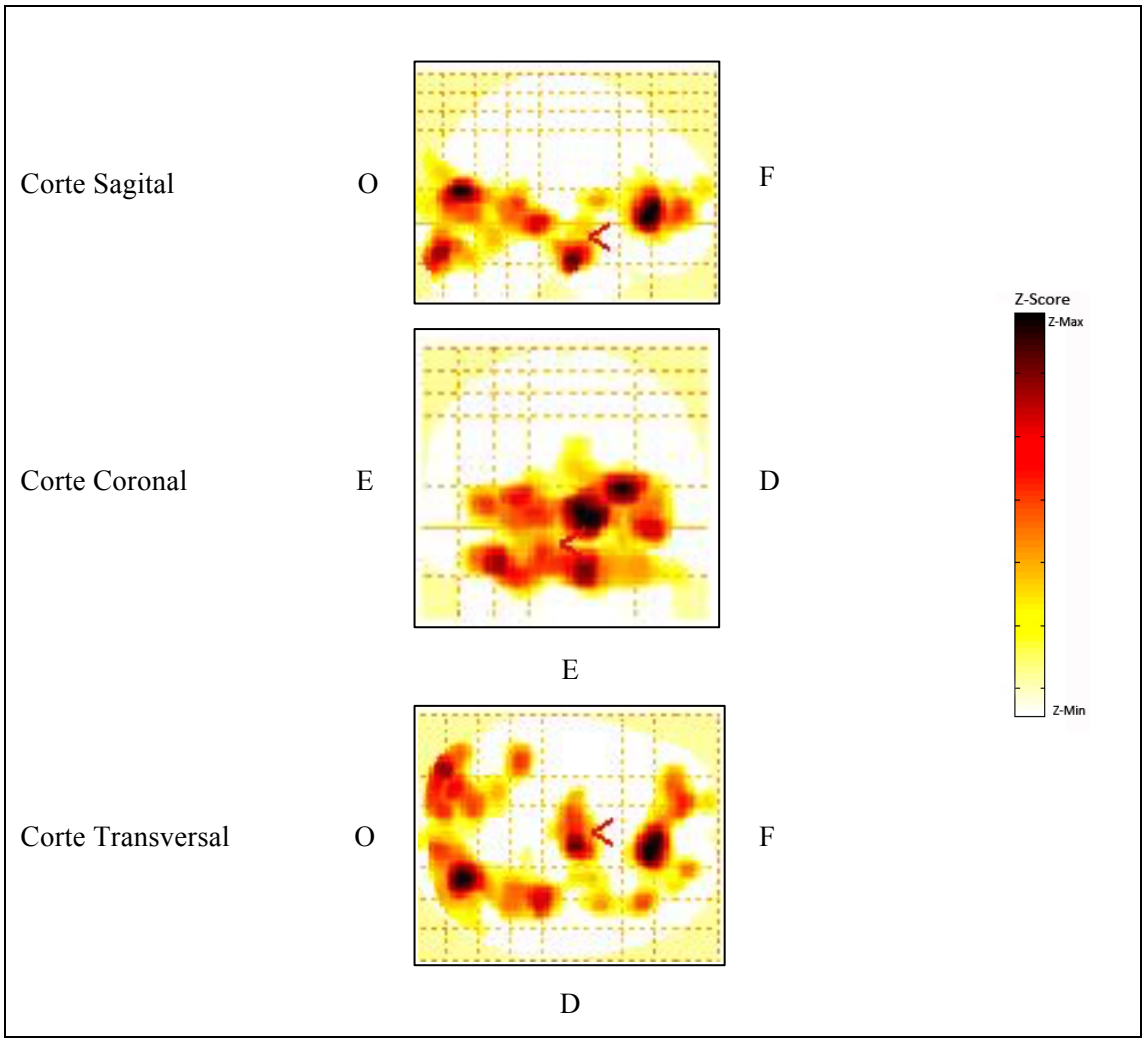

Figura 4. Regiões com perfusão aumentada em mulheres com obesidade em comparação às sem obesidade, após ingestão de água. Áreas mais escuras indicam maior diferença de intensidade. *Legenda:* O, Polo Occipital; F, Polo Frontal; D, lado direito; E, lado esquerdo.

1. Lobo occipital: cúneus, giros lingual e fusiforme posterior, Área de Brodman (BA) 18 e 19 (também conhecidos como giro occipito-temporal medial), sulco calcarino e córtex adjacente (BA 17), giros occipitais médio e inferior com menor ativação à direita. Giro occipital superior com maior ativação à direita;

2. Lobo frontal: Projeções anteriores bilaterais dos giros frontais superior, médio e inferior, anterior do giro frontal medial[a] (BA 10);

3. Lobo temporal: Amígdala e giro temporal superior direitos;

4. Lobo límbico: Hipocampo, giro parahipocampal, cíngulo anterior direito (BA 32 e 24) e cíngulo posterior (BA 30, 31);

5. Lobos cerebelares posteriores bilaterais: Declive;

6. Tronco encefálico: Ponte e mesencéfalo;

7. Ínsula direita (BA 13);

8. Núcleo lentiforme[b]: à direita.

A análise por pico de intensidade do sinal revelou as regiões descritas no quadro abaixo (correspondentes às áreas mais escuras da figura 4).

Quadro 7. Regiões que apresentaram maior intensidade do sinal em mulheres com obesidade em relação às sem obesidade, após ingestão de água.

		Coordenadas[a]			
Região	**Área (s) de Brodmann**	**x**	**y**	**z**	**Z score**
Pré-cúneus Direito	7	24	-74 32	16 2	3,70
Cíngulo Anterior Direito	24, 32	4	36	6	3,66
Mesencéfalo Direito		8	-10	-22	3,43
Giro Lingual Esquerdo	18	-34	-86	-18	3,32

[a] Coordenadas do Atlas Padrão MNI, tais que x é a distância em milímetros para a direita (+) ou esquerda (-) da linha média, y é a distância em milímetros anterior (+) ou posterior (-) à comissura anterior e z é a distância em milímetros superior (+) ou inferior (-) ao plano horizontal que passa pelas comissuras anterior e posterior. Z score: valor $p < 0,000$ (não corrigido para múltiplas comparações).

Por sua vez, também após ingestão de água em mulheres com obesidade em relação às sem obesidade, a análise por cluster também mostrou **menor** perfusão cerebral em um aglomerado de 17520 voxels distribuídos nas seguintes áreas:

1. Lobo frontal: Giro pré-central (BA 4), parte opercular (BA 44) e área motora suplementar (BA 6 e 8).

2. Lobo parietal: Pré-cúneus (BA 7), lóbulo paracentral com maior atividade à direita, giro pós-central (BA 1, BA 2, BA 3 e B5); com menor atividade à direita, giros parietal superior (BA 7) e inferior (BA 39 e BA 40) direitos.

3. Lobo temporal: Giros temporais superior e médio esquerdos (BA 21 e BA 22).

[a] Giro frontal medial: continuação medial do Giro frontal superior.
[b] Núcleo lentiforme: putâmen e o globo pálido.

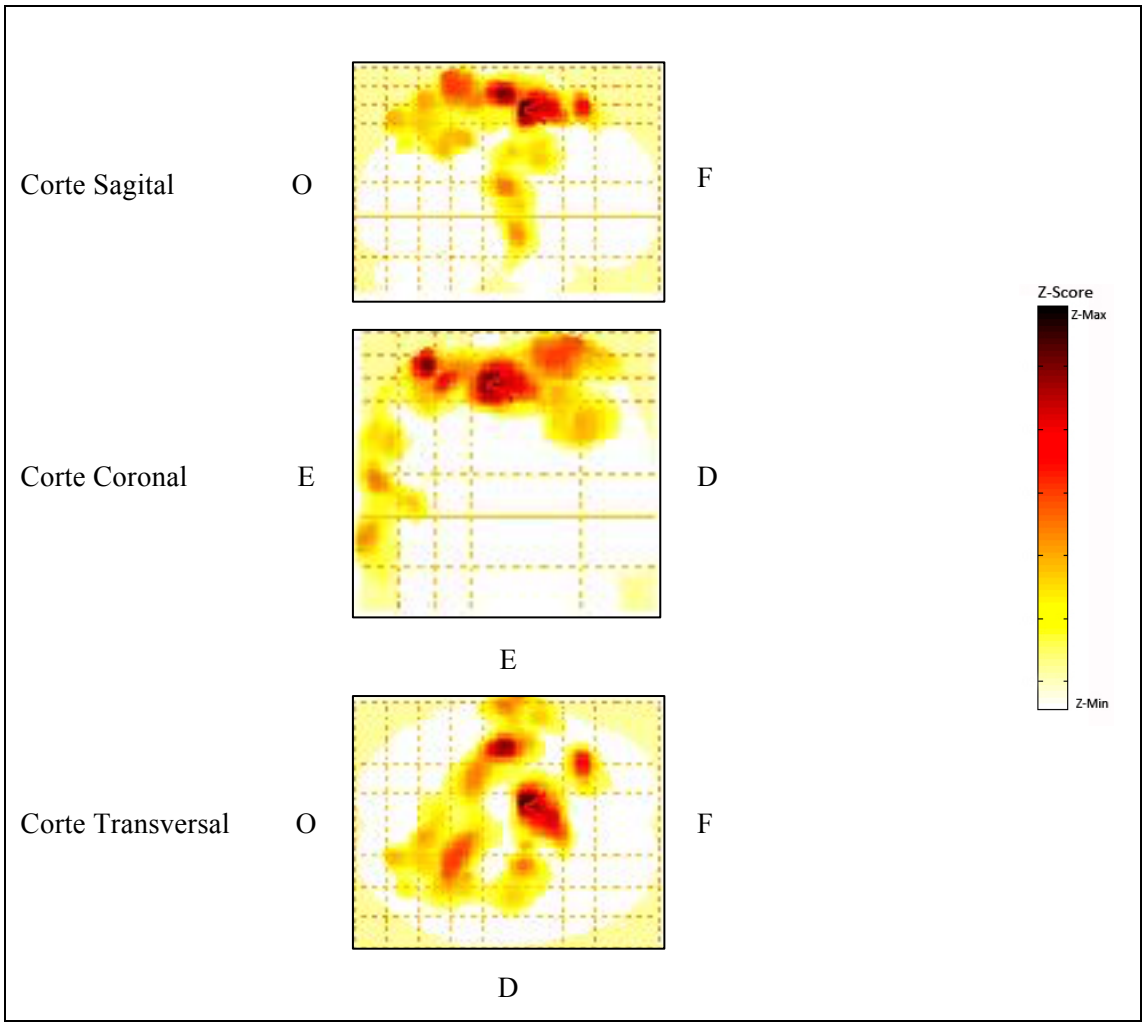

Figura 5. Regiões com perfusão reduzida em mulheres com obesidade em comparação às sem obesidade, após ingestão de água. Áreas mais escuras indicam maior diferença de intensidade.
Legenda: O, Polo Occipital; F, Polo Frontal; D, lado direito; E, lado esquerdo.

A análise por pico de intensidade do sinal revelou as regiões com menor perfusão descritas no quadro 8.

Após a ingestão de água, a intensidade do sinal nas regiões onde houve aumento de perfusão em pacientes com obesidade apresentou correlação linear negativa com a insulina e positiva com a glicemia e gordura corporal quando avaliada toda a amostra. Contudo, ao separarem-se os grupos, apenas a correlação negativa entre gordura corporal e intensidade do sinal em pacientes sem obesidade permaneceu.

Quadro 8. Regiões que apresentaram menor perfusão cerebral em mulheres com obesidade em relação às sem obesidade, após ingestão de água.					
		Coordenadas[a]			
Região	**Área (s) de Brodmann**	**x**	**y**	**z**	**Z score**
Giro Pré-central Esquerdo	4	-40	-18 32	66 2	4,09
Giro Frontal Superior Esquerdo	6	-2	8	56	3,65*
	8	-32	26	58	3,45

[a] Coordenadas do Atlas Padrão MNI, tais que x é a distância em milímetros para a direita (+) ou esquerda (-) da linha média, y é a distância em milímetros anterior (+) ou posterior (-) à comissura anterior e z é a distância em milímetros superior (+) ou inferior (-) ao plano horizontal que passa pelas comissuras anterior e posterior.
Z score: valor p < 0,000 (não corrigido para múltiplas comparações).
* Z score: valor p < 0,000 (corrigido para múltiplas comparações).

A intensidade do sinal nas regiões onde houve redução da perfusão em pacientes com obesidade apresentou correlação linear negativa com a leptina, glicemia, trigliceridemia e gordura corporal quando avaliada toda a amostra. Contudo, ao separarem-se os grupos, apenas a correlação negativa com a leptina nas voluntárias com obesidade e a positiva com gordura corporal e intensidade do sinal naquelas sem obesidade permaneceram.

Quadro 9. Múltiplas comparações com correlação (*r; valor p*) entre intensidade do sinal extraída da subtração de imagens OBES água menos NOBES água e outras variáveis.						
	Cluster com perfusão aumentada no grupo OBES			**Cluster com perfusão reduzida no grupo NOBES**		
Variáveis	NOBES	OBES	Ambos os grupos	NOBES	OBES	Ambos os grupos
Leptina	- 0,67 (0,03)	- 0,25 (0,4)	0,35 (0,1)	0,49 (0,15)	- 0,64 (0,04)	- 0,47 (0,037)
Insulina	- 0,41 (0,2)	- 0,02 (0,9)	-0,6 (0,001)	0,40 (0,25)	- 0,44 (0,2)	0,49 (0,02)
Glicemia	0,53 (0,1)	- 0,09 (0,8)	0,63 (0,002)	- 0,33 (0,34)	0,25 (0,4)	- 0,48 (0,03)
Trigliceridemia	- 0,08 (0,8)	- 0,11 (0,7)	0,04 (0,8)	0,07 (0,83)	- 0,23 (0,5)	- 0,14 (0,5)
Gordura corporal	- 0,70 (0,02)	- 0,21 (0,5)	0,67 (0,001)	0,74 (0,01)	- 0,06 (0,8)	- 0,57 (0,008)

Legenda: r, coeficiente de correlação linear de Pearson; OBES, grupo de mulheres com obesidade; NOBES, grupo de mulheres sem obesidade; Variáveis transformadas: Leptina (log); insulina (1/ insulina ao cubo).

4.3 Grupos OBES x NOBES, após ingestão de lipídeo

Em mulheres com obesidade em relação àquelas sem obesidade após ingestão de solução lipídica, a análise por cluster mostrou maior perfusão cerebral em um aglomerado de 7289 voxels distribuídos nas seguintes áreas:

1. Lobo occipital: cúneus, giro lingual medial, sulco calcarino e córtex adjacente, giros occipitais médio e inferior (BA 17, BA 18, BA 19) com menor ativação à direita;

2. Cerebelo: Região posterior e lóbulos semilunares superior e inferior com maior ativação à direita e declive;

3. Lobo temporal: Giro fusiforme com maior ativação à direita;

4. Lobo Límbico: Cíngulo posterior e istmo do cíngulo (BA 30).

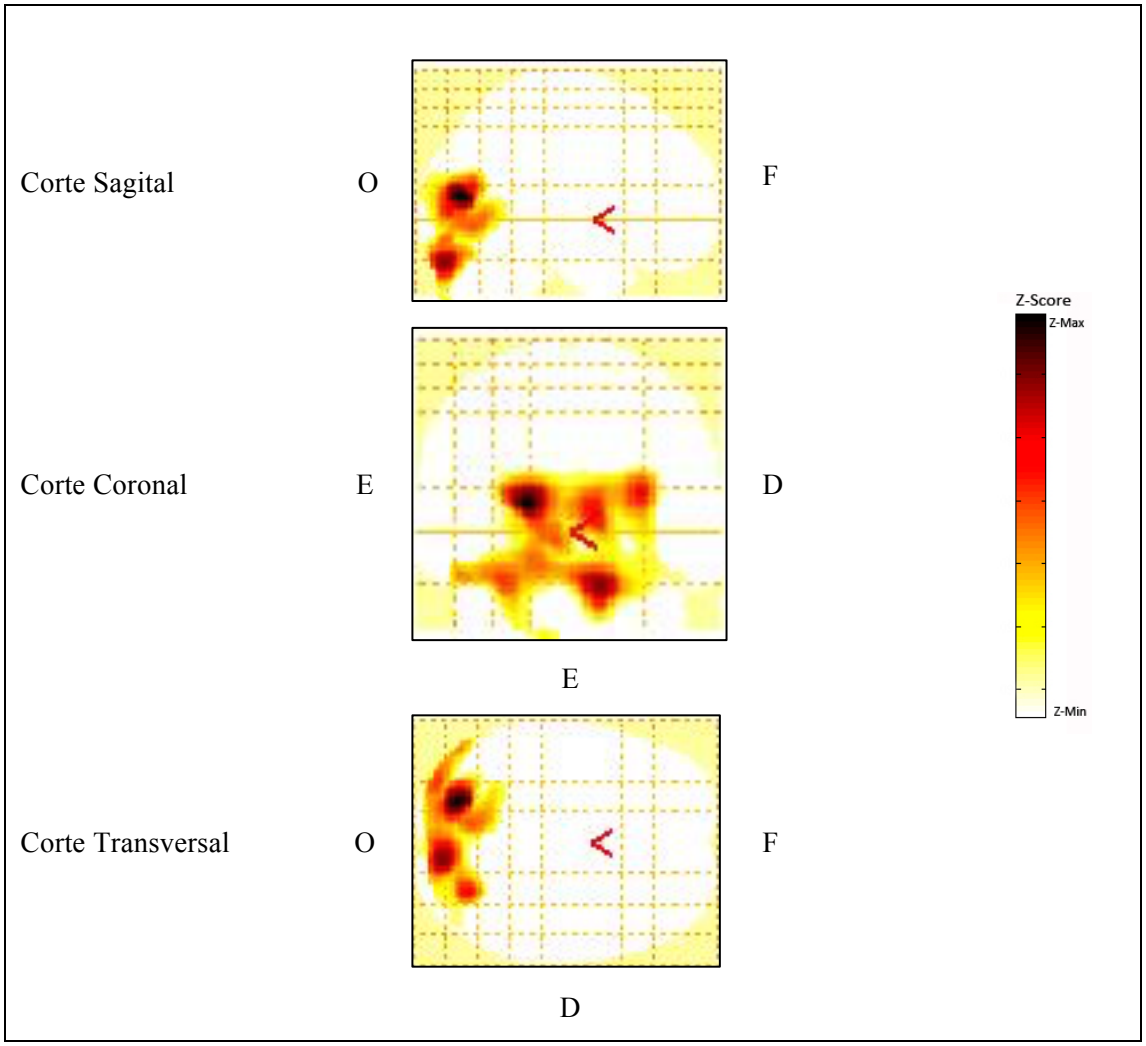

Figura 6. Regiões com perfusão aumentada em mulheres com obesidade em comparação às sem obesidade, após ingestão de solução lipídica. Áreas mais escuras indicam maior diferença de intensidade. *Legenda:* O, Polo Occipital; F, Polo Frontal; D, lado direito; E, lado esquerdo.

A análise por pico de intensidade do sinal revelou as regiões com maior perfusão descritas no quadro 10.

Quadro 10. Regiões que apresentaram maior perfusão cerebral em mulheres com obesidade em relação às sem obesidade, após ingestão de solução lipídica					
		Coordenadas[a]			
Região	**Área (s) de Brodmann**	**x**	**y**	**z**	**Z score**
Cúneus Esquerdo	17	-20	-76 32	10 2	3,84*
Lóbulo Seminular Superior e Declive à direita	6	12	-86	26	3,46
Giro Fusiforme	18	-30	-90	-24	3,43

[a] Coordenadas do Atlas Padrão MNI, tais que x é a distância em milímetros para a direita (+) ou esquerda (-) da linha média, y é a distância em milímetros anterior (+) ou posterior (-) à comissura anterior e z é a distância em milímetros superior (+) ou inferior (-) ao plano horizontal que passa pelas comissuras anterior e posterior.
Z score: valor p < 0,000 (não corrigido para múltiplas comparações).
* Z score: valor p < 0,000 (corrigido para múltiplas comparações).

Por sua vez, em mulheres com obesidade comparadas àquelas sem obesidade, após ingestão de solução lipídica, não houve áreas de menor perfusão cerebral em ambas as análises, por cluster e por pico.

Após a ingestão de solução lipídica, a intensidade do sinal nas regiões onde houve aumento da perfusão em pacientes com obesidade apresentou correlação linear positiva com a gordura corporal quando avaliada toda a amostra. Contudo, ao separarem-se os grupos, não houve correlação significante.

Quadro 11. Múltiplas comparações com correlação (*r; valor p*) entre intensidade do sinal extraída da subtração de imagens OBES lipídeo menos NOBES lipídeo e gordura corporal e concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias.			
Variáveis	**OBES (n = 10)**	**NOBES (n = 10)**	**Todas as voluntárias**
Glicose	0,03 (0,9)	0,28 (0,4)	0,12 (0,6)
Triacilglicerol	0,41 (0,2)	- 0,23 (0,5)	- 0,11 (0,6)
Insulina	- 0,09 (0,8)	- 0,55 (0,09)	- 0,3 (0,1)
Leptina	- 0,06 (0,8)	- 0,35 (0,3)	0,31 (0,1)
Gordura corporal	0,06 (0,8)	- 0,21 (0,5)	0,7 (< 0,001)

Legenda: Entre parênteses foram inseridos valores *p* não corrigidos para múltiplas comparações; *r*, coeficiente de correlação linear de Pearson; OBES, grupo de mulheres com obesidade; NOBES, grupo de mulheres sem obesidade; Variáveis transformadas: Insulina, 1/raiz quadrada da insulina; Leptina, Log leptina.

4.4 Grupo NOBES após ingestão de lipídeo x NOBES após água

Em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica, a análise por cluster mostrou maior perfusão cerebral em um aglomerado de 9515 voxels distribuídos nas seguintes áreas:

1. Lobo frontal: Giro frontal superior dorsolateral bilateral (BA 8), córtex pré-frontal anterior (BA 10) e dorsolateral (BA 9), região orbitária dos giros frontal superior, médio e medial com menor perfusão à direita. Giro frontal médio com maior perfusão à direita e giro frontal inferior opercular direito.

2. Lobo límbico: Giro do cíngulo anterior com menor ativação à direita (BA 32).

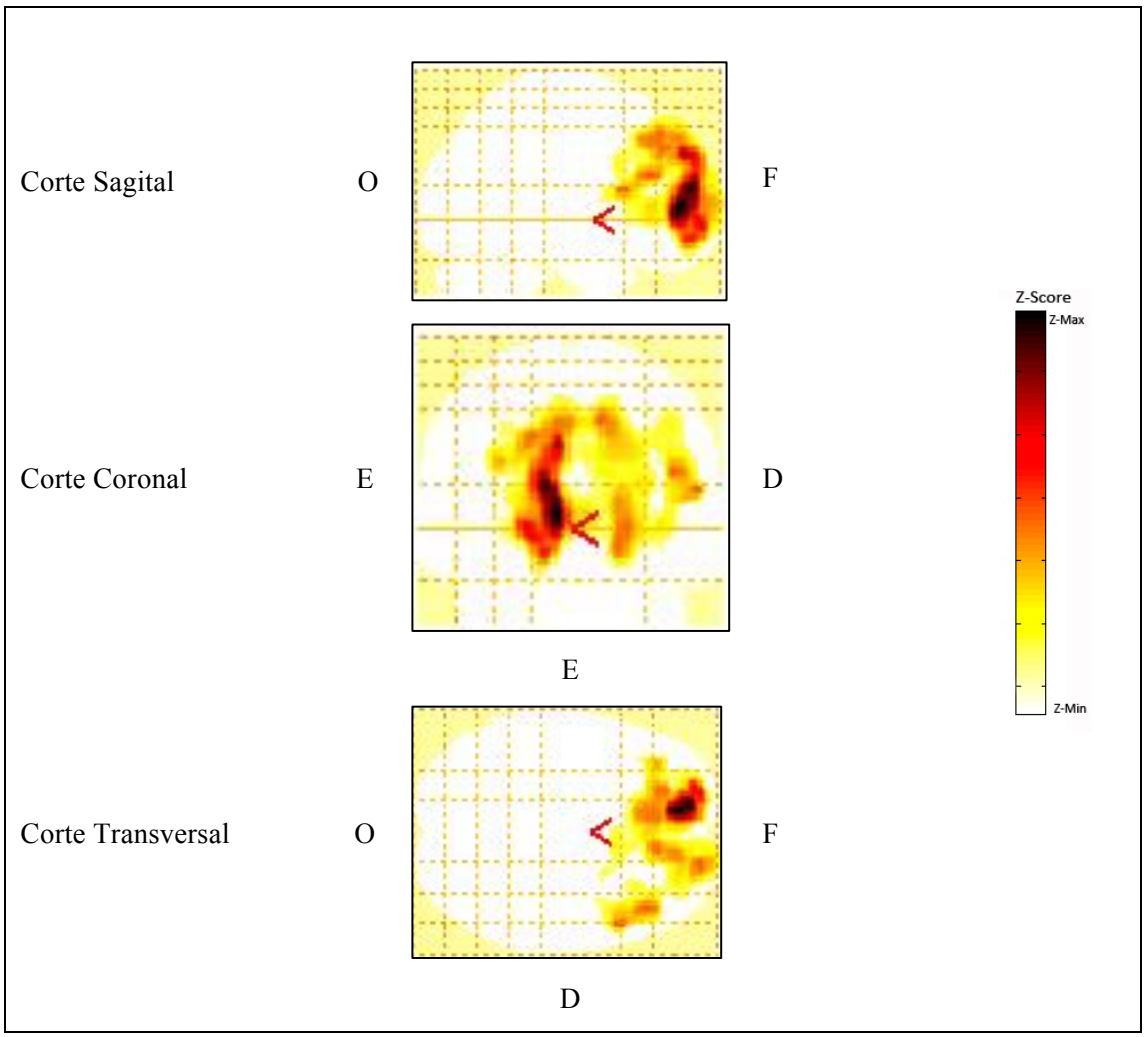

Figura 7. Regiões com perfusão aumentada em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica. Áreas mais escuras indicam maior diferença de intensidade.
Legenda: O, Polo Occipital; F, Polo Frontal; D, lado direito; E, lado esquerdo.

Nas regiões onde houve perfusão elevada, a diferença da média de elevação de intensidade de sinal entre voluntárias sem e com obesidade após a ingestão de solução lipídica em relação à ingestão de água é ilustrada na figura abaixo.

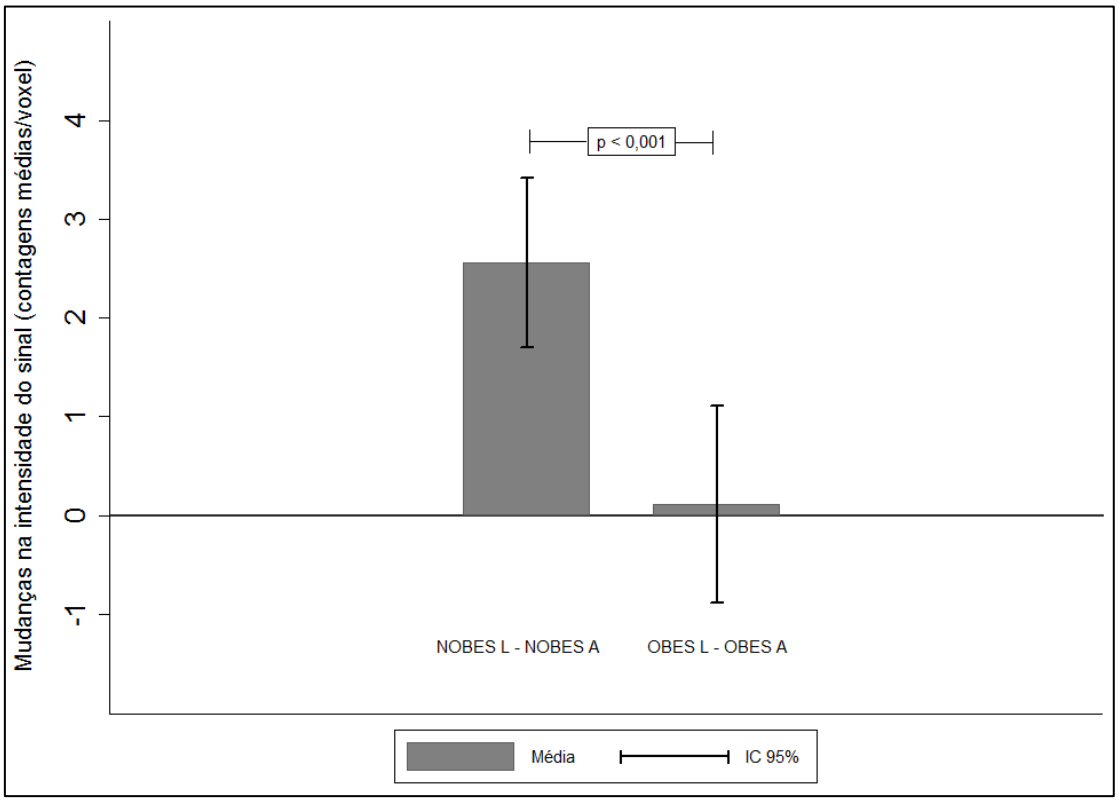

Figura 8. Gráfico com médias das mudanças na intensidade do sinal nos dois grupos após ingestão de solução lipídica.

A análise por pico de intensidade do sinal revelou as regiões com maior perfusão descritas no quadro abaixo.

Quadro 12. Regiões que apresentaram maior perfusão cerebral em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica.

		Coordenadas[a]			
Região	**Área (s) de Brodmann**	**x**	**y**	**z**	**Z score**
Giro Frontal Médio	10	-12	-54 32	16 2	4
Cíngulo Anterior	9	-10	46	4	4,09*

[a]Coordenadas do Atlas Padrão MNI, tais que x é a distância em milímetros para a direita (+) ou esquerda (-) da linha média, y é a distância em milímetros anterior (+) ou posterior (-) à comissura anterior e z é a distância em milímetros superior (+) ou inferior (-) ao plano horizontal que passa pelas comissuras anterior e posterior.
Z score: valor p < 0,000 (não corrigido para múltiplas comparações).
* Z score: valor p < 0,000 (corrigido para múltiplas comparações).

Após a ingestão de lipídeo, a intensidade do sinal nas regiões onde houve aumento da perfusão em pacientes sem obesidade não apresentou correlação linear com hormônios e gordura corporal quando avaliada toda a amostra. Contudo, ao separarem-se os grupos, houve correlação positiva com a leptina em voluntárias com obesidade e negativa com leptina em voluntárias sem obesidade (quadro 13).

Quadro 13. Coeficientes de correlação de Pearson entre a mudança na atividade cerebral (região com maior perfusão em mulheres sem obesidade após lipídeo) e a mudança nas concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias.

Variáveis	OBES (n = 10)	NOBES (n = 10)	Todas as voluntárias
Glicose	0,24 (0,5)	- 0,47 (0,1)	0,35 (0,1)
Triacilglicerol	- 0,002 (0,9)	0,05 (0,8)	0,18 (0,4)
Insulina	0,21 (0,5)	0,52 (0,1)	0,04 (0,8)
Leptina	0,73 (0,01)	- 0,65 (0,03)	0,36 (0,1)
Gordura corporal	- 0,22 (0,5)	- 0,11 (0,7)	-0,18 (0,4)

Legenda: Entre parênteses foram inseridos valores *p* não corrigidos para múltiplas comparações; *r*, coeficiente de correlação linear de Pearson; OBES, grupo de mulheres com obesidade; NOBES, grupo de mulheres sem obesidade; Variáveis transformadas: Insulina, 1/raiz quadrada da insulina; Leptina, Log leptina.

Por sua vez, nas mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas após a ingestão de solução lipídica, a análise por cluster também mostrou menor perfusão cerebral em um aglomerado de 4209 voxels distribuídos nas seguintes áreas do hemisfério esquerdo:

1. Lobo frontal: Giro pré-central (BA 4), giro frontal inferior (parte triangular BA 45 e giro frontal médio (BA 6, 46).

2. Lobo parietal: Giro pós-central (BA 3).

3. Lobo temporal: Giro temporal médio (BA 21) e giro temporal superior.

Nas regiões onde houve perfusão reduzida, a diferença da média de alteração de intensidade de sinal entre voluntárias sem e com obesidade após a ingestão de solução lipídica em relação à ingestão de água é ilustrada na figura 10.

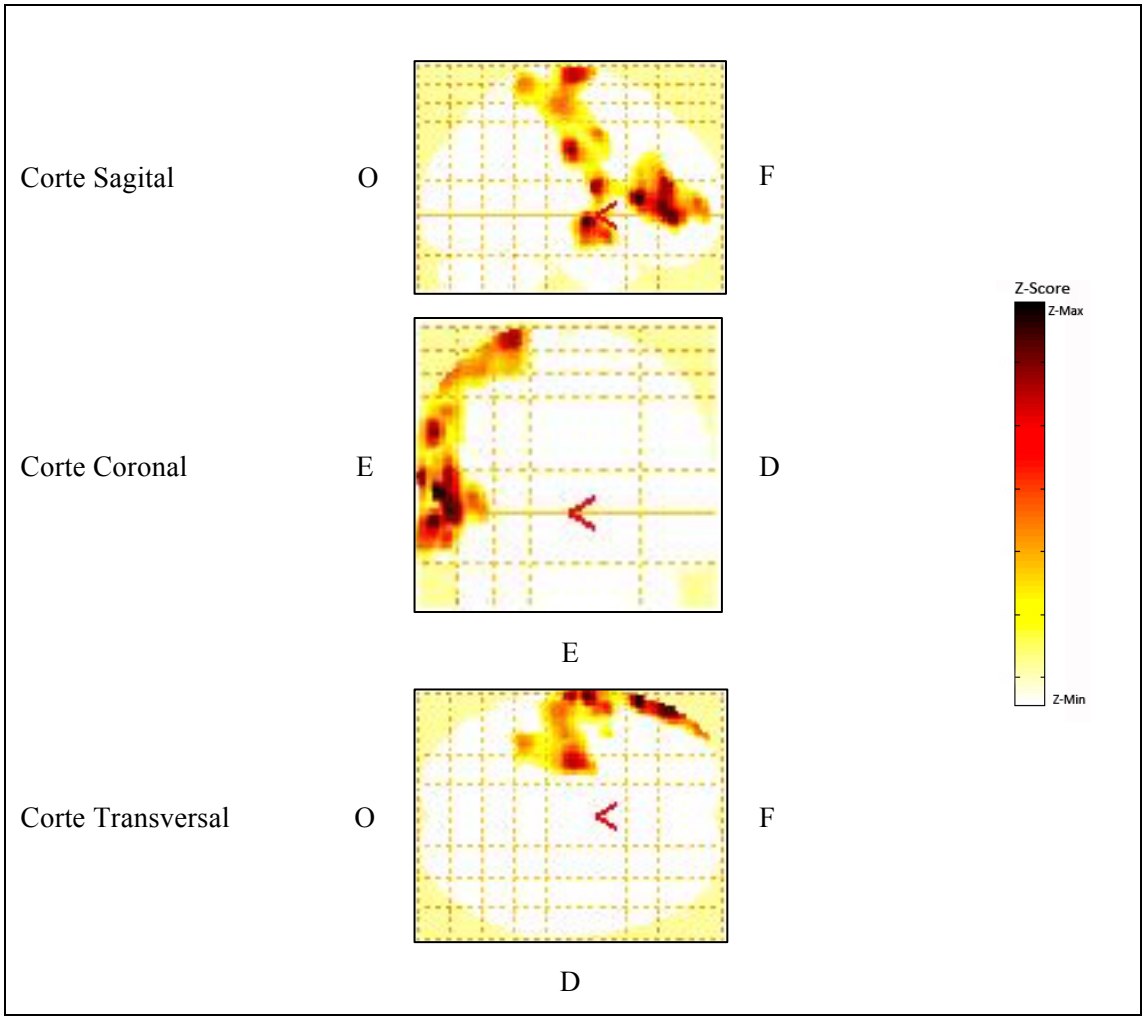

Figura 9. Regiões com perfusão reduzida em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica. Áreas mais escuras indicam maior diferença de intensidade.
Legenda: O, Polo Occipital; F, Polo Frontal; D, lado direito; E, lado esquerdo.

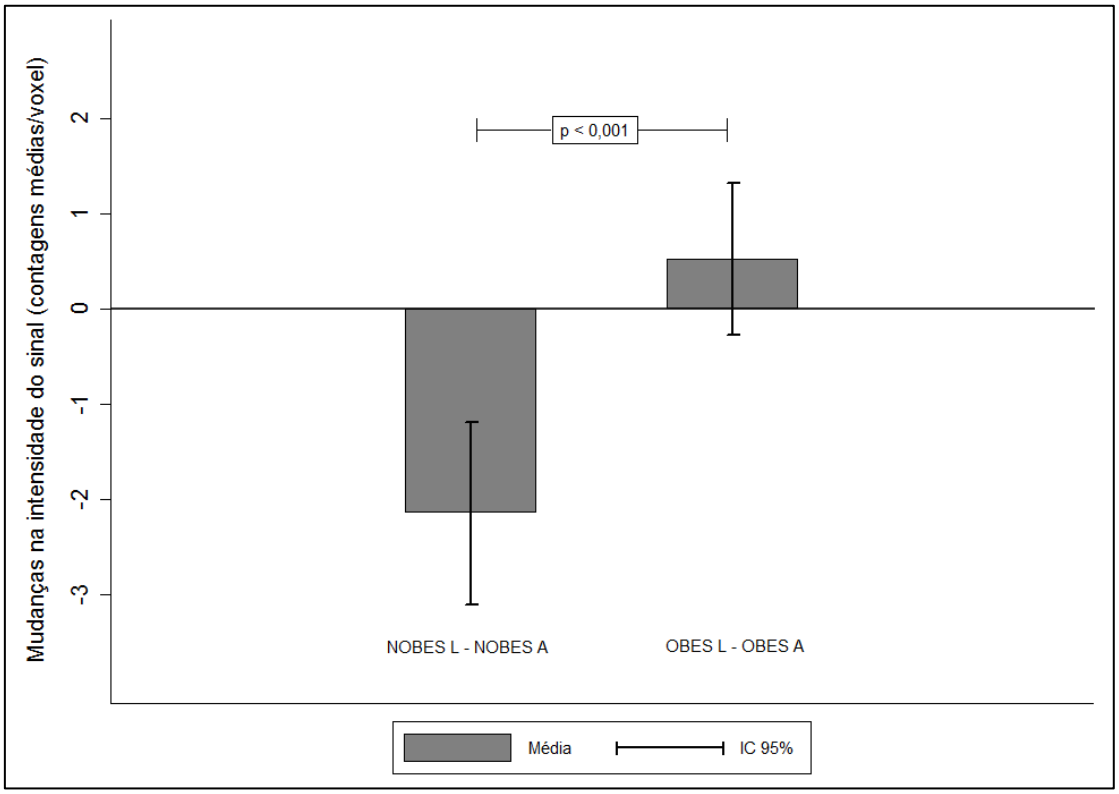

Figura 10. Gráfico com médias das mudanças na intensidade do sinal nos dois grupos após ingestão de solução lipídica.

A análise por pico de intensidade do sinal revelou as regiões com menor perfusão descritas na Quadro abaixo.

Quadro 14. Regiões que apresentaram menor perfusão cerebral em mulheres sem obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica.

		Coordenadas[a]			
Região	**Área (s) de Brodmann**	**x**	**y**	**z**	**Z score**
Giro Frontal Inferior (parte triangulada)	45	-60	22 32	6 2	3,65
		-56	40	-2	3,48
	45	-56	36	2	3,45
Giro Pós-central		-64	-16	34	3,37

[a]Coordenadas do Atlas Padrão MNI, tais que x é a distância em milímetros para a direita (+) ou esquerda (-) da linha média, y é a distância em milímetros anterior (+) ou posterior (-) à comissura anterior e z é a distância em milímetros superior (+) ou inferior (-) ao plano horizontal que passa pelas comissuras anterior e posterior.
Z score: valor p < 0,000 (não corrigido para múltiplas comparações).

Após ingestão de solução lipídica, a intensidade do sinal nas regiões onde houve redução da perfusão em pacientes sem obesidade apresentou correlação linear negativa com a

leptina quando avaliada toda a amostra. Contudo, ao separarem-se os grupos, apenas a correlação positiva entre gordura corporal e intensidade do sinal em voluntárias com obesidade permaneceu.

Quadro 15. Coeficientes de correlação de Pearson entre a mudança na atividade cerebral (região com menor atividade em mulheres sem obesidade após lipídeo) e a mudança nas concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias.

Variáveis	OBES (n = 10)	NOBES (n = 10)	Todas as voluntárias
Glicose	0,36 (0,3)	0,61 (0,06)	- 0,1 (0,6)
Triacilglicerol	0,13 (0,7)	- 0,38 (0,2)	- 0,22 (0,3)
Insulina	- 0,57 (0,08)	- 0,13 (0,7)	- 0,01 (0,9)
Leptina	- 0,77 (0,008)	0,21 (0,5)	- 0,46 (0,04)
Gordura corporal	0,74 (0,01)	0,24 (0,4)	0,4 (0,08)

Legenda: Entre parênteses foram inseridos valores *p* não corrigidos para múltiplas comparações; *r*, coeficiente de correlação linear de Pearson; OBES, grupo de mulheres com obesidade; NOBES, grupo de mulheres sem obesidade; Variáveis transformadas: Insulina, 1/raiz quadrada da insulina; Leptina, Log leptina.

4.5 Grupos OBES após ingestão de lipídeo x OBES após água

Em mulheres com obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica, não houve áreas de maior perfusão cerebral em ambas as análises, por cluster e por pico.

Por sua vez, em mulheres com obesidade comparadas a elas mesmas após ingestão de solução lipídica, a análise por cluster mostrou menor perfusão cerebral em um aglomerado de 10400 voxels distribuídos principalmente no hemisfério direito nas seguintes áreas:

1. Lobo Temporal: Giros temporal superior, médio, inferior, lingual e sulco calcarino e córtex adjacente.

2. Lobo Frontal: Córtex pré-frontal dorsolateral (BA 46), Giro pré-central e giro frontal inferior (parte triangular) e Opérculo Rolândico.

3. Tronco Encefálico

4. Ínsula (BA 13)

5. Tálamo, Núcleo lentiforme

6. Cerebelo: Lobo anterior (cúlmen)

7. Lobo límbico: Hipocampo e giro parahipocampal

Nas regiões onde houve redução da perfusão em pacientes com obesidade após a ingestão de solução lipídica, a diferença da média de redução de intensidade de sinal entre os grupos em relação a ingestão de água é ilustrada na figura 12.

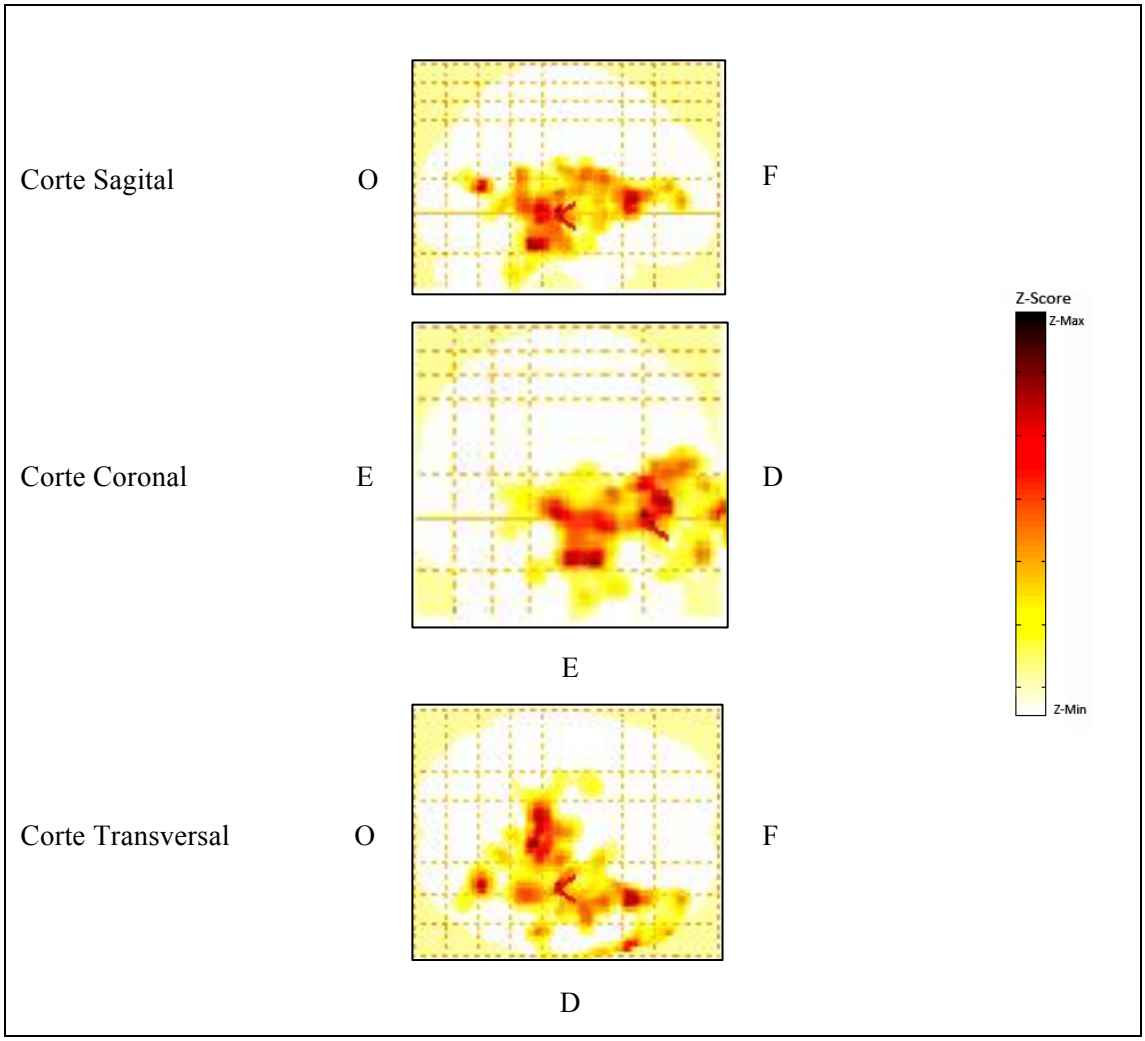

Figura 11. Regiões com perfusão reduzida em mulheres com obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica. Áreas mais escuras indicam maior diferença de intensidade.
Legenda: O, Polo Occipital; F, Polo Frontal; D, direito; E, esquerdo.

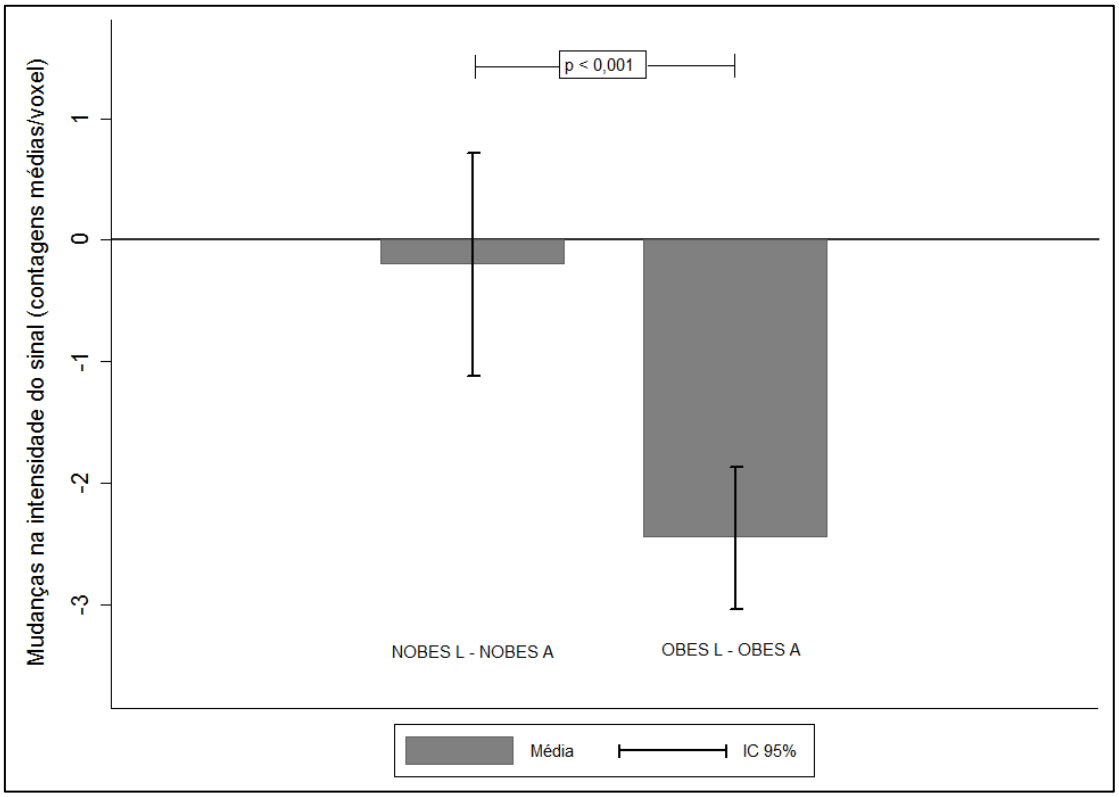

Figura 12. Gráfico com médias das mudanças na intensidade do sinal nos dois grupos.

A análise por pico de intensidade do sinal revelou as regiões com menor perfusão descritas na Quadro abaixo.

Quadro 16. Regiões que apresentaram menor perfusão cerebral em mulheres com obesidade comparadas a elas mesmas, após ingestão de solução lipídica.

		Coordenadas[a]			
Região	**Área (s) de Brodmann**	**x**	**y**	**z**	**Z score**
Putâmen		32	-20 32	2 2	3,99
Mesencéfalo		8	-34	20	3,69
		0	-30	20	3,52
		-6	-30	0	3,47
Ínsula		40	20	4	3,57

[a]Coordenadas do Atlas Padrão MNI, tais que x é a distância em milímetros para a direita (+) ou esquerda (-) da linha média, y é a distância em milímetros anterior (+) ou posterior (-) à comissura anterior e z é a distância em milímetros superior (+) ou inferior (-) ao plano horizontal que passa pelas comissuras anterior e posterior.
Z score: valor p < 0,000 (não corrigido para múltiplas comparações).

Após ingestão de solução lipídica, a intensidade do sinal nas regiões onde houve redução da perfusão em pacientes com obesidade não apresentou correlação linear com hormônios ou gordura corporal quando avaliada toda a amostra ou quando separados os grupos.

Quadro 17. Coeficientes de correlação de Pearson entre a mudança na atividade cerebral (região com menor perfusão em mulheres com obesidade após lipídeo) e a mudança nas concentrações séricas de hormônios e metabólitos para ambos os grupos e para todas as voluntárias.

Variáveis	OBES (n = 10)	NOBES (n = 10)	Todas as voluntárias
Glicose	- 0,53 (0,1)	- 0,59 (0,06)	0,05 (0,8)
Triacilglicerol	- 0,24 (0,4)	0,47 (0,1)	0,23 (0,3)
Insulina	0,04 (0,9)	- 0,3 (0,3)	- 0,3 (0,1)
Leptina	0,37 (0,2)	0,01 (0,9)	0,38 (0,1)
Gordura corporal	- 0,36 (0,3)	0,27 (0,4)	- 0,13 (0,5)

Legenda: Entre parênteses foram inseridos valores *p* não corrigidos para múltiplas comparações; *r*, coeficiente de correlação linear de Pearson; OBES, grupo de mulheres com obesidade; NOBES, grupo de mulheres sem obesidade; Variáveis transformadas: Insulina, 1/raiz quadrada da insulina; Leptina, Log leptina.

5 DISCUSSÃO

As diferenças apresentadas entre os grupos OBES e NOBES no início do protocolo ou são características dos grupos como peso e IMC, ou estão associadas à obesidade e aos estados de resistência insulínica como pressões arterial sistólica e diastólica, HDL colesterol e glicemias nos tempos 0 e 120 do teste oral de tolerância à glicose[93,94,95].

Conforme descrito na literatura, o momento de maior elevação da trigliceridemia após ingestão de refeição gordurosa abrange uma faixa que vai de 60[92] a 240 minutos[96]. A ausência de elevação após 60 minutos da ingestão da solução, e portanto, no momento da administração do radiofármaco e da captação das imagens, pode ter resultado das diversas condições que influenciam a absorção de lipídeos[92]. Vale ressaltar que não houve diferença entre as médias de trigliceridemia entre os grupos aos 60 minutos. Durante a realização do protocolo com solução lipídica, a manutenção das médias de glicemia em níveis semelhantes pode dever-se à utilização de glicose como substrato energético.

A discussão dos resultados foi realizada de acordo com duas possíveis comparações:

1. Intergrupo, onde as imagens do grupo OBES foram comparadas às do NOBES após a ingestão do mesmo desafio alimentar (água ou solução lipídica) e;

2. Intragrupo onde as imagens após ingestão de solução lipídica foram comparadas com imagens do mesmo grupo após ingestão de água.

Deve ser considerado que pelo menos em parte, as diferenças entre nossos achados e os descritos na literatura podem ser explicadas pelas diferentes metodologias, tipos de estímulo, técnicas de neuroimagem funcional e análises estatísticas empregadas assim como as características dos voluntários recrutados nos estudos[97]. Também deve ser destacado que, os tempos diferentes para administração do radiofármaco, para água 30 minutos e para a solução lipídica 60 minutos, basearam-se nos diferentes tempos de esvaziamento gástrico para ambos os estímulos[98,99].

Na comparação intergrupo, em pacientes com obesidade em relação à voluntárias sem obesidade, após trinta minutos da ingestão de água, houve maior perfusão em áreas pertencentes à Salience Network[100] e à Default Mode Network[101]. Esses circuitos neuronais estão relacionados ao reconhecimento e à atribuição de valores hedônicos a estímulos, assim como à percepção do sensações do meio interno como fome e sede.

Ao contrário, na mesma comparação, houve redução da perfusão em áreas relacionadas às seguintes funções: córtex somatossensorial primário, córtex motor primário e área motora suplementar, córtex de associação somatossensorial de visão espacial e memória

de trabalho, compreensão da linguagem e gerenciamento da memória e processamento de estímulos auditivos.

Sessenta minutos após a ingestão de solução lipídica, na comparação de imagens de voluntárias com obesidade em relação às imagens de voluntárias sem obesidade, após mesmo desafio alimentar, houve aumento da perfusão em áreas relacionadas às seguintes funções: córtex visual primário e secundário e controle de movimentos involuntários e tônus muscular. Observa-se que não houve aumento de perfusão em estruturas envolvidas em inibição de comportamentos inapropriados, nem em estruturas envolvidas nos circuitos de motivação e recompensa (lobo límbico, ínsula, núcleo lentiforme). No entanto, não houve redução de atividade, inferida pela diminuição do fluxo sanguíneo em nenhuma região. Não parece haver relação entre o aumento perfusional observado e absorção da solução lipídica uma vez que em ambos os grupos a maior elevação da trigliceridemia ocorreu aos 120 minutos e que no momento da captação das imagens, não houve diferença entre as médias dos testes com água e lipídeo.

A atividade cerebral aumentada, após ambos os estímulos, observada predominantemente no lobo occipital esquerdo não foi descrita em estudos com Ressonância Magnética em voluntários sem obesidade ou com sobrepeso após infusão intragástrica de glicose[102] e ácidos graxos livres[85].

Embora de forma inconsistente, a maioria dos estudos comparando voluntários com obesidade aos sem obesidade observa, após a ingestão de refeições mistas contendo três macronutrientes, atividade cerebral aumentada em áreas gustatórias e somatossensoriais, o que seria compatível nossa observação de aumento da perfusão nos córtices visuais primário e secundário, e reduzida na região pré-frontal caracterizando uma resposta antecipatória exacerbada[96,103,104,99,105,106107]. Tal observação só foi encontrada em nosso estudo após o estímulo com água. Também é descrita na literatura, a redução da atividade cerebral no Striatum, que pode estar relacionada, após o consumo do alimento, a uma recompensa consumatória diminuída [97,108]. No entanto, deve-se ressaltar que o desafio alimentar utilizado em nosso estudo foi constituído apenas de um macronutriente, o lipídeo.

A elevação da perfusão cerebelar tem sido observada em resposta à fome e à infusão intragástrica de glicose e à estimulação, visual, gustatória e olfatória[99,109,110,111, 112]. Projeções cerebelo-hipotalâmicas podem estar relacionadas à movimentação ávida por alimento em resposta a sinais viscerais (aferências vagais, colecistoquininina, leptina e glicemia) e sensoriais. Além disso, o cerebelo, por meio de circuitos diretos com o córtex e indiretos com a amígdala e o sistema límbico, pode estar associado ao reconhecimento afetivo e cognitivo de alimentos[113].

Na comparação intragrupos, comparadas ao dia em que ingeriram apenas água, as imagens de pacientes sem obesidade obtidas após a ingestão de solução lipídica, apresentaram perfusão aumentada em áreas relacionadas às seguintes funções: inibição de impulsos inapropriados, atruibuição do valor hedônico do alimento nos circuitos de motivação e recompensa e córtex sensorial primário gustatório. Uma vez que não houve no momento de injeção do radiofármaco, elevação da trigliceridemia o aumento perfusional não parece estar relacionado à absorção de lipídeos. Também considerando que não houve diferença entre as concentrações de leptina neste grupo entre os dias de teste com água e solução lipídica, a menor concentração de leptina parece estar correlacionada a maior intensidade de sinal nas áreas supracitadas, embora não tenha havido correlação com a massa gordurosa.

Achado contrastante foi observado em voluntários não obesos após a infusão intragástrica de ácido dodecanoico[85] onde, por meio de Ressonância Magnética, aumento do sinal no tronco encefálico, ponte, hipotálamo, cerebelo e áreas motoras corticais. Contudo, o momento avaliado pelo SPECT em nosso estudo foi 60 minutos após a ingestão do desafio alimentar o que difere daquele captado por estudos com Ressonância Magnética em que imagens obtidas após 2 minutos de teste foram consideradas.

Efeitos da distensão do esôfago[114] e do estômago[115,116] podem explicar a atividade cerebral aumentada observada no cíngulo anterior direito das voluntárias com obesidade na comparação intergrupos após a ingestão de água e nas voluntárias sem obesidade na comparação intragrupos após ingestão de solução lipídica. Contudo, não se pode desconsiderar que amígdala, hipocampo, ínsula e cíngulo anterior são estruturas envolvidas na codificação dos valores afetivos e do prazer que o alimento evoca [100, 117,118].

O córtex pré-frontal, ou seja a área não motora do lobo frontal, ocupa grande extensão e abriga circuitos neuronais complexos que recebem fibras de todas as áreas de associação além de comunicar-se com o sistema límbico e com o núcleo dorsomedial do tálamo. Esta região está implicada na escolha de estratégias adequadas, manutenção da atenção e, em conjunto com o hipotálamo e o sistema límbico, no controle do comportamento emocional e nos processos motivacionais primários. Estudos apontam o papel desempenhado por essa região em conjunto com os gânglios da base no controle de comportamentos impulsivos[119].

Por sua vez, o córtex orbitofrontal, em conjunto com a amígdala, hipocampo e cíngulo anterior, desempenha papel crucial na avaliação do valor hedônico do alimento[120] ao integrar aferências sensoriais com os sinais de fome ou saciedade oriundos de núcleos talâmicos, hipotalâmicos e do NTS.

O aumento perfusional observado nessas duas regiões em voluntárias sem obesidade após estímulo lipídico pode representar uma melhor capacidade de analisar as consequências imediatas e tardias do consumo de um alimento e assim, decidir qual ação lhe será mais benéfica: comer ou parar de comer[121,122].

Áreas relacionadas às seguintes funções apresentaram redução da perfusão após ingestão de solução lipídica em voluntárias sem obesidade em relação ao teste com ingestão de água: córtex motor primário, área motora suplementar, córtex somatossensorial primário, gerenciamento da memória e processamento de estímulos auditivos. De igual maneira, a diminuição perfusional não parece estar relacionada à absorção dos triglicérides da solução lipídica.

Nossos achados contrastam com estudo com RMN onde, após a ingestão oral de proteínas, carboidratos e lipídeos, foi observado apenas em homens não obesos redução do sinal na ínsula, tálamo, além do núcleo caudato e córtex orbitofrontal[123].

Após ingestão de solução lipídica, as imagens de mulheres com obesidade não apresentaram aumento perfusional em nenhuma região quando comparadas às imagens das mesmas voluntárias após ingestão de água. Ao contrário, foi encontrada apenas redução de perfusão em algumas das áreas onde antes foram registradas elevações nas comparações com pacientes sem obesidade após ingestão de água como a ínsula, hipocampo e giro parahipocampal, tronco encefálico e opérculo frontal. Além destas áreas, o córtex pré-frontal e regiões relacionadas à percepção e reconhecimento de formas e parte do córtex visual primário apresentaram atividade reduzida em mulheres com obesidade após a ingestão de solução lipídica. Estudo com fRMN mostrou menor aumento de sinal no córte pré-frontal dorsolateral em voluntários com obesidade após ingestão de refeição mista o que sugeriu um prejuízo no controle de impulsos[105]. No nosso estudo, a intensidade da redução do sinal não apresentou correlação linear com hormônios, nutrientes ou gordura corporal.

Em voluntárias com obesidade, foi observada após a ingestão de água, ou seja em estado basal, uma maior ativação de regiões relacionadas à atribuição de recompensas e à percepção de sensações do meio interno [100, 101] o que pode representar uma maior recompensa antecipatória frente a um estímulo alimentar . Também nessa população, a redução da perfusão no córtex gustatório primário e a ausência de elevação da perfusão na área pré-frontal e córtex orbitofrontal, observadas após a ingestão de solução lipídica, podem apontar para uma inibição insuficiente de impulsos inapropriados frente a um consumo alimentar aumentado em decorrência de recompensa consumatória diminuída[49].

6 CONCLUSÃO

O aumento da perfusão cerebral em regiões relacionadas a controle de impulsos como o córtex pré-frontal, observado após a ingestão de solução lipídica apenas em pacientes sem obesidade, pode representar um maior controle do comportamento alimentar nesse grupo de pacientes. Por outro lado em pacientes com obesidade, após ingestão de água houve maior ativação de circuitos relacionados ao reconhecimento de sensações como fome e sede, associada após a ingestão de solução lipídica, à redução da perfusão em regiões envolvidas em regiões sensoriais gustatórias o que pode estar relacionado a uma ingestão alimentar aumentada decorrente de recompensa consumatória prejudicada.

Ambos os mecanismos, controle de impulsos prejudicado e dificuldade em obter a recompensa antecipada, isolados ou em conjunto, podem resultar em ganho ponderal e consequente obesidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] HILL J.O.; et al. Obesidade: Etiologia. In: Shils, ME. Nutrição moderna na saúde e na doença. Barueri: Ed. Manole, 2009. p 1088 – 1105.

[2] HEYMSFIELD S.B.; et al. Evaluation of total and regional adiposity. In: BRAY G.A.; BOUCHARD C. Handbook of Obesity - Etiology and Pathophysiology. New York. Ed:. 93 – 108.

[3] GODOY-MATOS A.F.; OLIVEIRA J.; GUEDES E.P.; et al. Diretrizes brasileiras de obesidade - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. 3ª Edição. Itapevi: AC Farmacêutica, 2009.

[4] CALLE E.E.; THUN M.J.; PETRELLI J.M; et al. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. N Engl J Med 1999; 341:1097-105.

[5] GALLAGHER D.; VISSER M.; SEPULVEDA D.; et al. How useful is body mass índex for comparison of body fatness across age, sex, and ethnic groups? Am J Epidemiol 1996;143:228-39.

[6] GARN S.M.; LEONARD W.R.; HAWTHORNE V.M. Three limitations of the body mass index. Am J Clin Nutr 1986; 44:996–997.

[7] DEURENBERG P.; YAP M.; WANG J.; et al. The impact of body build on the relationship between body mass index and percent body fat. Int J Obes Relat Metab Disord 1999;23:537-42.

[8] GARROW J.S.; WEBSTER J. Quetelet's index (W/H2) as a measure of fatness. Int J Obes 1985; 9:147–153.

[9] BAUMGARTNER R.N.; HEYMSFIELD S.B.; ROCHE A.F. Human body composition and the epidemiology of chronic disease. Obes Res 1995; 3:73–95.

[10] REXRODE K.M.; CAREY V.J.; HENNEKENS C.H.; et al. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. JAMA 1998;280:1843-8.

[11] POULIOT M.C.; DESPRES J.P.; LEMIEUX S.; et al. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. Am J Cardiol 1994;73:460-8.

[12] HAN T.S.; SEIDELL J.C.; CURRALL J.E.; et al. The influences of height and age on waist circumference as an index of adiposity in adults. Int J Obes Relat Metab Disord 1997;21:83-9.

[13] MOLARIUS A.; SEIDELL J.C.; SANS S.; et al. Varying sensitivity of waist action levels to identif y subjects with overweight or obesity in 19 populations of the WHO MONICA Project. J Clin Epidemiol 1999;52:1213-24.

[14] FLEGAL K.M.; CARROLL M.D.; KIT B.K.; et al. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. JAMA 2012; 307:491–7.

[15] World Health Organization. Disponível em www.who.int. Acesso em: 16 nov. 2014.

[16] Ministério da Saúde do Brasil. Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel). 2013. Disponível em: http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/abril/30/Lancamento-Vigitel-28-04-ok.pdf. Acesso em: 16 nov. 2014.

[17] TSURUGIZAWA T.; UEMATSU A.; NAKAMURA E.; et al. Mechanisms of neural response to gastrointestinal nutritive stimuli: the gut-brain axis. Gastroenterology 2009; 137:262–73.

[18] FIGLEWICZ D.P.; BENOIT S.C. Insulin, leptin, and food reward: update 2008. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2009; 296: R9-R19.

[19] FELTRIN K.L.; PATTERSON M.; GHATEI M.A.; et al. Effect of fatty acid chain length on suppression of ghrelin and stimulation of PYY, GLP-2 and PP secretion in healthy men. Peptides 2006; 27: 1638–43.

[20] GAO Q.; HORVATH, T.L. Neurobiology of feeding and energy expenditure. Annu. Rev. Neurosci. 2007; *30*, 367–398.

[21] STERNSON S.M. Hypothalamic Survival Circuits: Blueprints for Purposive Behaviors Neuron *77*, March 6, 2013 a2013 Elsevier Inc. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2013.02.018.

[22] YANG, Y.; ATASOY, D.; SU, H.H.; et al. Hunger states switch a flip-flop memory circuit via a synaptic AMPK-dependent positive feedback loop. Cell 2011; *146*, 992–1003.

[23] ATASOY, D.; BETLEY, J.N.; SU, H.H.; et al. Deconstruction of a neural circuit for hunger. Nature 2012; *488*, 172–177.

[24] OLLMANN, M.M.; WILSON, B.D.; YANG, Y.K.; et al. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. Science 1997; *278*, 135–138.

[25] VAN DEN TOP, M.; LEE, K.; WHYMENT, A.D.; et al. Orexigen-sensitive NPY/AgRP pacemaker neurons in the hypothalamic arcuate nucleus. Nat. Neurosci. 2004; *7*, 493–494.

[26] KÖNNER, A.C.; JANOSCHEK, R.; PLUM, L.; et al. Insulin action in AgRP-expressing neurons is required for suppression of hepatic glucose production. Cell Metab. 2007; *5*, 438–449.

[27] FIORAMONTI X.; CONTIÉ S.; SONG Z.; et al. Characterization of glucosensing neuron subpopulations in the arcuate nucleus: integration in neuropeptide Y and pro-opio melanocortin networks? Diabetes 2007; *56*, 1219–1227.

[28] APONTE Y.; ATASOY D.; STERNSON S.M. AGRP neurons are sufficient to orchestrate feeding behavior rapidly and without training. Nat. Neurosci. 2011; *14*, 351–355.

[29] TOKITA K.; INOUE T.; BOUGHTER Jr J.D. Afferent connections of the parabrachial nucleus in C57BL/6J mice. Neuroscience 2009; *161*, 475–488.

[30] HAYES M.R.; SKIBICKA K.P.; LEICHNER T.M.; et al. Endogenous leptin signaling in the caudal nucleus tractus solitarius and area postrema is required for energy balance regulation. Cell Metab 2011; 11:77–83

[31] COWLEY M.A.; SMART J.L.; RUBINSTEIN M.; et al. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. Nature 2001; *411*, 480–484.

[32] LEINNINGER G.M.; JO Y.H.; LESHAN R.L.; et al. Leptin acts via leptin receptor-expressing lateral hypothalamic neurons to modulate the mesolimbic dopamine system and suppress feeding.Cell Metab 2009; 10:89–98

[33] BJORBAEK C.; KAHN B.B. Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. Recent Prog Horm Res 2004; 59:305–331

[34] KISHI T.; ELMQUIST J.K. Body weight is regulated by the brain: a link between feeding and emotion. Mol Psychiatry 2005; 10: 132-46.

[35] PAPEZ J. A proposed mechanism for emotion. Archives of Neurology and Psychiatry 1937; 38:725-743.

[36] BERRIDGE K.C. Food reward: brain substrates of wanting and liking. Neurosci Biobehav Rev 1996; 20: 1–25.

[37] BERRIDGE K.C. 'Liking' and 'wanting' food rewards: brain substrates and roles in eating disorders. Physiol Behav 2009; 97: 537–50.

[38] MATTES R.D. Is there a fatty acid taste? Annu Rev Nutr 2009; 29: 305–27.

[39] ROLLS E.T.; GRABENHORST F. The orbitofrontal cortex and beyond: from affect to decision-making. Prog Neurobiol 2008; 86: 216–44.

[40] ROLLS E.T. Taste, olfactory and food texture reward processing in the brain and obesity International Journal of Obesity 2011; 35, 550–561; doi: 10.1038/ijo.2010.155;

[41] DE ARAUJO I.E.; ROLLS E.T. Representation in the human brain of food texture and oral fat. J Neurosci 2004; 24: 3086–93.

[42] GOSNELL B.; LEVINE A. Reward systems and food intake: role of opioids. Int. J. Obes. 2009; 33 (Suppl. 2), S54–S58

[43] WISE R. Role of brain dopamine in food reward and reinforcement. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2006; 361, 1149– 1158

[44] BERRIDGE K.C. Wanting and Liking: Observations from the Neuroscience and Psychology Laboratory. Inquiry (Oslo) 2009; 52: 378.

[45] YEOMANS M.R.; MOBINI S. Hunger alters the expression of acquired hedonic but not sensory qualities of food-paired odors in humans. J Exp Psychol Anim Behav Process. 2006; 32:460–466. [PubMed: 17044748]

[46] ROLLS E.T.; ROLLS J.H. Olfactory sensory-specific satiety in humans. Physiol Behav. 1997; 61:461– 473. [PubMed: 9089767]

[47] ROLLS E.T.; ROLLS B.J.; ROWE E.A. Sensory-specific and motivation-specific satiety for the sight and taste of food and water in man. Physiol Behav. 1983; 30:185–192. [PubMed: 6844432]

[48] STOECKEL L.E.; COX J.E.; COOK 3rd E.W.; WELLER R.E. Motivational state modulates the hedonic value of food images differently in men and women. Appetite. 2007; 48:139–144. [PubMed: 17034902]

[49]VOLKOW N.D.; WANG G.; BALER R.D. Reward, dopamine and the control of food intake: implications for obesity Trends in Cognitive Sciences January 2011; Vol. 15, No. 1 doi:10.1016/j.tics.2010.11.001

[50] JABER M.; JONES S.; GIROS B.; et al. The dopamine transporter: a crucial component regulating dopamine transmission. *Mov Disord* 1997; 12: 629–633.

[51] CARROLL M.E.; MEISCH R.A. Increased drug-reinforced behavior due to food deprivation. *Adv Behav Pharmacol* 1984; 4: 47–88.

[52] CARR K.D. Augmentation of drug reward by chronic food restriction: behavioral evidence and underlying mechanisms. *Physiol Behav* 2002; 76: 353–364.

[53] FIGLEWICZ D.P.; WOODS S.C. Adiposity signals and brain reward mechanisms. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 235–236.

[54] HALLSCHMID M.; BENEDICT C.; SCHULTES B.; et al. Intranasal insulin reduces body fat in men but not in women. Diabetes 2004; 53:3024–3029

[55] HOMMEL J.D.; TRINKO R.; SEARS R.M.; et al. Leptin receptor signaling in midbrain dopamine neurons regulates feeding. *Neuron* 2006; 51: 801–810.

[56] WOODS S.C.; SEELEY R.J. Insulin as an adiposity signal. Int J Obes Relat Metab Disord 2001; 25: S35–S38

[57] STEPHAN F.; REVILLE P.; THIERRY R. Correlations between plasma insulin and body weight in obesity, anorexia nervosa and diabetes mellitus. Diabetologia 1972; 8:196–201

[58] BAURA G.; FOSTER D.; PORTE D. JR.; et al. Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo: a mechanism for regulated insulin delivery to the brain. J Clin Invest 1993; 92:1824–1830.

[59] SCHWARTZ M.W.; FIGLEWICZ D.P.; BASKIN D.G.; et al. Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance. Endocr Rev 1992; 13:387–414

[60] MIRSHAMSI S.; LAIDLAW H.A.; NING K.; et al. Leptin and insulin stimulation of signaling pathways in arcuate nucleus neurons: PI3K dependent actin reorganization and K_{ATP} channel activation. *BMI Neurosci* 2004; 5:54.

[61] NISWENDER K.D.; BASKIN D.G.; SCHWARTZ M.W. Insulin and its evolving partnership with leptin in the hypothalamic control of energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 362–369.

[62] VAN HOUTEN M.; POSNER B.I. Insulin binds to brain blood vessels in vivo. Nature 1979; 282:623–625

[63] BASKIN D.G.; PORTE D. JR.; GUEST K.; et al. Regional concentrations of insulin in the rat brain. Endocrinology 1983a; 112:898–903.

[64] BASKIN D.G.; WOODS S.C.; WEST D.B.; et al. Immunocytochemical detection of insulin in rat hypothalamus and its possible uptake from cerebrospinal fluid. Endocrinology 1983b; 113:1818–1825.

[65] VAN HOUTEN M.; POSNER B.I.; KOPRIWA B.M.; et al. Insulin-binding sites in the rat brain: in vivo localization to the circumventricular organs by quantitative radioautography. Endocrinology 1979; 105:666–673.

[66] MARKS J.L.; EASTMAN C.J.; Ontogeny of insulin binding in different regions of the rat brain. Dev Neurosci 1990; 12:349–358.

[67] MARKS J.L.; PORTE D JR.; STAHL W.L.; et al. Localization of insulin receptor mRNA in rat brain by in situ hybridization. Endocrinology 1990; 127:3236.

[68] PORTE D JR, WOODS S.C. Regulation of food intake and body weight by insulin. *Diabetologia* 20 *Suppl*: 1981; 274 –280.

[69] ZHANG Y.; PROENCA R.; MAFFIE M.; et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425– 432.

[70] BANKS W.A.; KASTIN A.J.; HUANG W.; et al. Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. Peptides 1996; 17:305–311.

[71] SCARPACE P.J.; ZHANG Y. Leptin resistance: a prediposing factor for diet-induced obesity. Am J Physiol 2009; 296:R493–500.

[72] BANKS W.; DIPALMA C.; FARRELL C. Impaired transport of leptin across the blood-brain barrier in obesity. *Peptides* 1999; 20: 1341–1345.

[73] BANKS W.; KING B.; ROSSITER K.; et al. Obesity-inducing lesions of the central nervous system alter leptin uptake by the blood-brain barrier. *Life Sci* 2001; 69: 2765–2773.

[74] CARO J.; KOLACZYNSKI J.; NYCE M,; et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* , 1996; 348: 159–161.

[75] KAIYALA K.J.; PRIGEON R.L.; KAHN S.E.; et al. Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes* 2000; 49: 1525–1533.

[76] SCHWARTZ M.; PESKIND E.; RASKIND M.; et al. Cerebro-spinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med* 1996; 2: 589 –59.

[77] LIN L.; MARTIN R.; SCHAFFHAUSER A.O.; et al. Acute changes in the response to peripheral leptin with alteration in the diet composition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280: R504–R509.

[78] JORDAN S.D.; KONNER A.C.; BRUNING J.C. Sensing the fuels: glucose and lipid signaling in the CNS controlling energy homeostasis. Cell Mol Life Sci 2010; 67:3255–3273

[79] DREWNOWSKI A.; KRAHN D.D.; DEMITRACK M.A.; et al. Taste responses and preferences for sweet high-fat foods: evidence for opioid involvement. *Physiol Behav* 1992; 51: 371–379.

[80] CARNELL S.; GIBSON C.; BENSON L. Neuroimaging and obesity: current knowledge and future directions Obes Rev. 2012 January; 13(1): 43–56. doi:10.1111/j.1467-789X.2011.00927.x.

[81] BENADIBA, M.; LUURTSEMA, G.; WICHERT-ANA, L.; et al. New Molecular Targets for PET and SPECT Imaging in Neurodegenerative Diseases. Revista Brasileira de Psiquiatria (São Paulo. 1999. Impresso) JCR 2012, v. 34, p. 125-148. doi:10.1016/j.rbp.2012.07.002.

[82] VELASCO, T.R.; WICHERT-ANA, L.; SANTOS, A.C.; et al. Utility of Ictal Single Photon Emission Computed Tomography in Mesial Temporal Lobe Epilepsy With Hippocampal Atrophy: A Randomized Trial. Neurosurgery JCR 2011, v. 68, p. 431-436.

[83] LIU, Y.; GAO, J.-H.; LIU, H.-L.; et al. The temporal response of the brain after eating revealed by functional MRI. Nature 2000; 405, 1058–1062.

[84] VIDARSDOTTIR, S.; SMEETS, P.A.; EICHELSHEIM, D.L.; et al. Glucose ingestion fails to inhibit hypothalamic neuronal activity in patients with type 2 diabetes. Diabetes 2007; 56 (10), 2547–2550.

[85] LASSMAN D.J.; MCKIE S.; GREGORY J.L.; et al. Defining the Role of Cholecystokinin in the Lipid-Induced Human Brain Activation Matrix GASTROENTEROLOGY 2010; 138:1514–1524.

[86] ZIESSMAN H.A.; O'MALLEY J.P.; THRALL J.H. Nuclear Medicine. 3th ed. Philadelphia: Mosby Elsevier, 2006.

[87] PAGANO, M.; GAUVREAU K. Princípios de Bioestatística. São Paulo: Thomson Pioneira, 2003.

[88] BORGES C.B.N.; BORGES R.M.; SUEN V.M.M. Gasto energético: técnicas de estimativa. In: VANNUCCHI H.; MARCHINI J.S. (Org.). Nutrição e Metabolismo - Nutrição Clínica. 01 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, v. , p. 16-21.

[89] KYLE U.G.; BOSAEUS I.; DE LORENZO A.D.; et. al. ESPEN Working Group. Bioelectrical impedance analysis-part I: review of principles and methods. Clin Nutr. 2004; Oct;23(5):1226-43.

[90] NICOLETTI C.F.; CAMELO J.S. JR, MARCHINI J.S.; et al. Bioelectrical impedance vector analysis in obese women before and after bariatric surgery: changes in body composition. Nutrition. 2014; 30:569-74.

[91] BRIGGS G.G.; NEBES R.D. Ptterns of Hand preference in a student population. Cortex 1975 Sep; 11 (3): 230-8.

[92] LAIRON D.; LOPEZ-MIRANDA J.; WILLIAMS C. Methodology for studying postprandial lipid metabolism. European Journal of Clinical Nutrition 2007; 61, 1145-1161.

[93] BJORNTORP P. Etiology of Metabolic Syndrome. In: GRAY G.A.; BOUCHARD C.Handbook of obesity Etiology and Pathophysiology. 2nd Edition. New York: CRC Press, 2007. p 787-812.

[94] DESPRÉSS J; et al. Obesity and Lipoprotein Metabolism. In: GRAY G.A.; BOUCHARD C. Handbook of obesity Etiology and Pathophysiology. 2nd Edition. New York: CRC Press, 2007. p 845-872.

[95] ROCCHINI A.P. Obesity and Blood Pressure Regulation. In: GRAY G.A.; BOUCHARD C. Handbook of obesity Etiology and Pathophysiology. 2nd Edition. New York: CRC, 2007. p 787-812.

[96] LAMBERT J.A.; PARKS E.J. Postprandial metabolism of meal triglyceride in humans. Biochim Biophys Acta 2012 May; 1821(5): 721–726. doi:10.1016/j.bbalip.2012.01.006.

[97] WELTENS N.; ZHAO D.; VAN OUDENHOVE L. Where is the comfort in comfort foods? Mechanisms linking fat signaling, reward, and emotion Neurogastroenterol Motil 2014; 26, 303–315 doi: 10.1111/nmo.12309.

[98] GISOLFI C.V.; SUMMERS R.W.; SCHEDL H.P.; et al. Human intestinal water absorption: direct vs. indirect measurements *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* , 1990; 258:G216-G222.

[99] LIN H.C.; VAN CITTERS G.W.; ZHAO X,; et al. Fat Intolerance Depends on Rapid Gastric Emptying *Digestive Diseases and Sciences February 1999; Vol. 44, No. 2, pp. 330 ± 335*

[100] McFADDEN K.L.; CORNIER M.; MELANSON E.L.; et al. Effects of exercise on resting-state default mode and salience network activity in overweight/obese adults NeuroReport 2013, Vol 24 No 15.

[101] CRAIG A.D. Interoception: the sense of the physiological condition of the body. Current Opinion in Neurobiology 2003, 13:500–505.

[102] LITTLE J.T.; MCKIE S.; JONES R.B.; et al. Mapping glucose-mediated gut-to-brain signalling pathways in humans NeuroImage 96 2014; 1–11 http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.03.059.

[103] BOHON C.; STICE E.; SPOOR S. Female emotional eaters show abnormalities in consummatory and anticipatory food reward: a functional magnetic resonance imaging study. Int J Eat Disord 2009; 42: 210–21.

[104] STICE E.; SPOOR S.; BOHON C.; VELDHUIZEN M.G.; et al. Relation of reward from food intake and anticipated food intake to obesity: a functional magnetic resonance imaging study. J Abnorm Psychol 2008; 117: 924–35.

[105] PARIGI A.; SALBE A.D.; REIMAN E.M.; et al. Less activation of the left dorsolateral prefrontal cortex in response to a meal: a feature of obesity. Am J Clin Nutr 2006; 84: 725–31.

[106] LE DS.; PANNACCIULLI N.; CHEN K.; et al. Less activation in the left dorsolateral prefrontal cortex in the reanalysis of the response to a meal in obese than in lean women and its association with successful weight loss. Am J Clin Nutr 2007; 86: 573–9.

[107] DELPARIGI A.; CHEN K.; SALBE A.D.; et al. Sensory experience of food and obesity: a positron emission tomography study of the brain regions affected by tasting a liquid meal after a prolonged fast. NeuroImage 2005; 24: 436–43.

[108] BURGER K.S.; STICE E. Variability in reward responsivity and obesity: evidence from brain imaging studies. Curr Drug Abuse Rev 2011; 4: 182–9.

[109] SCHMAHMANN J.D.; Doyon J.; McDONALD D.; et al. Three-dimensional MRI atlas of the cerebellum in proportional stereotaxic space. Neuroimage 1999; 10:233–26.

[110] SOBEL N.; PRABHAKARAN V.; HARTLEY C.A.; et al. Odorant-induced and sniff-induced activation in the cerebellum of the human. J Neurosci 1998; 18:8990–9001.

[111] CERF-DUCASTEL B.; MURPHY C. fMRI activation in response to odorants orally delivered in aqueous solutions. Chem Senses 2001; 26:625–637.

[112] KILLGORE W.D.; YOUNG A.D.; FEMIA L.A.; et al. Cortical and limbic activation during viewing of high- versus low-calorie foods. Neuroimage 2003; 19:1381–1394.

[113] ZHU J.; WANG J. The Cerebellum in Feeding Control: Possible Function and Mechanism Cell Mol Neurobiol 2008; 28:469–478 DOI 10.1007/s10571-007-9236-z

[114] AZIZ Q.; ANDERSSON J.L.; VALIND S.; et al. Identification of human brain loci processing esophageal sensation using positron emission tomography. Gastroenterology 1997; 113:50–60.

[115] VAN OUDENHOVE L.; VANDENBERGHE J.; DUPONT P.; et al. Cortical deactivations during gastric fundus distension in health: visceral pain-specific response or attenuation of 'default mode' brain function? A $H_2{}^{15}O$-PET study. Neurogastroenterol Motil 2009; 21: 259 – 271.

[116] LADABAUM U.; MINOSHIMA S.; HASLER W.L.; et al. Gastric distension correlates with activation of multiple cortical and subcortical regions. Gastroenterology 2001; 120: 369 –376.

[117] KRINGELBACH M.L. Food for thought: hedonic experience beyond homeostasis in the human brain. Neuroscience 2004; 126: 807–19.

[118] BERTHOUD H.R.; LENARD N.R.; SHIN A.C. Food reward, hyperphagia, and obesity. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2011; 300: R1266–77.

[119] SOYOUN K.; DAEYEOL L. Prefrontal Cortex and Impulsive Decision Making Biol Psychiatry. 2011 June 15; 69(12): 1140–1146. doi:10.1016/j.biopsych.2010.07.005.

[120] ZHENG H.; LENARD N.R.; SHIN A.C.; et al. Appetite control and energy balance regulation in the modern world: reward-driven brain overrides repletion signals. Int J Obes Lond 2009; 33 (Suppl. 2): S8–13.

[121] MCCLURE S.M.; ERICSON K.M.; LAIBSON D.I.; et al. Time discounting for primary rewards. J Neurosci. 2007; 27:5796–5804. [PubMed: 17522323]

[122] HARE T.A.; CAMERER C.F.; RANGEL A. Self-control in decision-making involves modulation of the vmPFC valuation system. Science. 2009; 324:646–648. [PubMed: 19407204]

[123] LI J.; AN R.; ZHANG Y.; et al. Correlations of macronutrient-induced functional magnetic resonance imaging signal changes in human brain and gut hormone responses Am J Clin Nutr 2012; 96:275–82. Printed in USA. 2012 American Society for Nutrition.

APÊNDICES

Apêndice 1

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

FMRP-USP
RIBEIRÃO PRETO

Ribeirão Preto, 07 de dezembro de 2011

Ofício nº 4481/2011
CEP/MGV

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **"INGESTÃO AGUDA DE LIPÍDEOS E ALTERAÇÃO DA PERFUSÃO CEREBRAL DE PACIENTES OBESOS"**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 338ª Reunião Ordinária realizada em 05/12/2011, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 14080/2011.

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

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

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

Atenciosamente.

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

Ilustríssimos Senhores
CRISTIANE MARIA MÁRTIRES DE LIMA
PROF.DR. JÚLIO SÉRGIO MARCHINI
Depto. de Clínica Médica - Nutrologia

Apêndice 2

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

www.hcrp.fmrp.usp.br

USP - RIBEIRÃO
assistência - ensino - pesquisa

50 anos

Apêndice I - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – Grupo NO (Não Obesos)

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, de uma pesquisa. Após o conhecimento das informações a seguir, você poderá decidir sobre sua participação ou não neste projeto, sem perda do direito de receber os cuidados médicos de rotina ou quaisquer outros benefícios aos quais tenha direito na assistência médica regular na clínica habitual, qualquer que seja sua decisão.

Título do Projeto de Pesquisa: Ingestão aguda de lipídeos e alteração da perfusão cerebral de pacientes obesos

Local da Pesquisa: Seção de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Av. Bandeirantes, 3900 – Bairro Monte Alegre – CEP: 14048-900 – Fone/FAX: (16) 3602-2596 – E-mail: nucmed@hcrp.usp.br.

Pesquisadores responsáveis:

- Cristiane Maria Mártires de Lima. Médica Nutróloga. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Telefones: (16) 3633-0036/3602-2448 Fax: (16) 3633-6695.
- Prof. Dr. Júlio Sérgio Marchini. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- USP. Telefone: (16) 3633-0036/3602-2448 Fax: (16) 3633-6695.
- Prof. Dr. Lauro Wichert Ana. Seção de Medicina Nuclear - Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto FMRP - USP. Telefone: (16) 3602-2596.

Justificativa e Objetivos da pesquisa

Esse projeto será realizado por mim, Cristiane Maria Mártires de Lima, médica Nutróloga, pós-graduanda da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HC) e meus orientadores. Queremos entender uma parte do que acontece para que uma pessoa fique gorda, mais exatamente que alterações o alimento pode fazer no cérebro da pessoa com esse problema.

Informações sobre os procedimentos que serão realizados

Serão realizados exames da cabeça com aparelho de Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética e também precisaremos retirar um pouco de seu sangue através de

uma veia do seu braço para dosagem laboratorial de glicose, triglicérides e hormônios. Esses podem estar alterados na obesidade e são importantes para o estudo. O (A) senhor (a) será chamado (a) para realização de um exame de Ressonância Magnética e dois exames de Tomografia da cabeça, sendo necessário ficar em jejum por doze horas antes de cada um. Durante os exames de tomografia será coletado um pouco do seu sangue antes e depois de o (a) senhor (a) tomar pela boca uma pequena quantidade de óleo ou água. O pesquisador não saberá qual foi a engolida. Para realização dos exames de tomografia, um medicamento precisa ser administrado por uma veia de seu braço. O ECD-Tecnécio-99m. Esses exames de tomografia têm previsão de durar não mais que duas horas

Desconfortos e Riscos Esperados

As injeções não apresentarão riscos ou prejuízos a você, mas poderão causar ligeira dor ou ardência, sangramento, hematoma ou inflamações nos locais de aplicação, queixas estas que podem acontecer após uma injeção na pele. O estudo será realizado em duas fases. Em cada etapa, o (a) Sr (Sra) receberá uma dose do radiofármaco Etilenodicisteína marcado com Tecnécio-99m (^{99m}Tc-ECD) na veia, que é utilizado para investigar várias doenças e também para estudar como o remédio é distribuído no cérebro, e fazer uma tomografia cerebral, um exame que fornece imagens do cérebro. Este radiofármaco possui pequena quantidade de radiação, mas na dose já aprovada para diagnóstico pelos órgãos reguladores sendo no Brasil, pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Quanto ao risco de efeitos colaterais, raramente este radiofármaco pode causar alguns sintomas, tais como febre, dor de cabeça, dor no peito, vermelhidão na pele, tontura e náuseas. O óleo que o (a) Senhor (a) vai tomar é um tipo de gordura, um alimento. Assim, não se espera que o (a) Senhor (a) venha a apresentar qualquer problema com os exames. O Sr. (Sra.) será avaliado por médico caso sinta algum desconforto durante a realização dos exames.

Privacidade

A sua privacidade será respeitada, ou seja, o seu nome ou qualquer outro dado que possa de alguma forma identificá-lo (a) não serão revelados nunca. Os dados deste estudo serão mantidos em um banco de dados da Seção de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas – FMRP – USP.

Benefícios que se pode obter

O (A) senhor (a) foi escolhido (a) porque não tem obesidade. O motivo de fazermos essa pesquisa é tentar entender porque a pessoa engorda e conseguir, no futuro, tratar melhor as

pessoas com esse problema. Isto não significa que a presente pesquisa tenha algum resultado benéfico e atual para você.

Custos

O senhor (a) não ganhará nada e não gastará nada para participar nesse projeto. No entanto, está sendo oferecida uma ajuda de custo no valor de cinquenta reais, apenas para cobrir os seus gastos com o transporte e alimentação em cada vinda ao Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. O (A) senhor (a) pode decidir aceitar ou não essa ajuda, como achar melhor.

ConsentimentoPós-Informação

Eu,_____, fui informado (a) sobre o que a pesquisadora quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto "Ingestão aguda de lipídeos e alteração da perfusão cerebral de pacientes obesos". Fui devidamente informado (a) em detalhes pelo (s) pesquisador (es) responsável (eis) no que diz respeito aos objetivos da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido (a), aos riscos e benefícios e quanto à garantia de sigilo sobre os meus dados clínicos e de identificação. Fui informado (a) de que será assegurada a minha assistência médica durante toda a pesquisa, bem como terei livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre esta pesquisa e suas consequências. Entendi que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência médica, diagnóstica e tratamento. Entendi que está sendo me oferecida uma ajuda de custo, apenas para me ajudar nos gastos com transporte e alimentação e que não estou sendo pago (a) para participar dessa pesquisa. Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar desse estudo.

Estou recebendo uma cópia deste documento, assinada, que vou guardar. Para qualquer outra informação o senhor (a) poderá entrar em contato comigo pelo telefone (16) 3633-0036/3602-2448 Fax: (16) 3633-6695 ou pelo e-mail cris_martires@hotmail.com.

Nome do participante:_____RG:_____

Ass.:_____.

Pesquisadora Responsável: Cristiane Maria Mártires de Lima- CRMSP: 136885

Ass.:_____

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

www.hcrp.fmrp.usp.br

USP - RIBEIRÃO
assistência - ensino - pesquisa

50 anos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – Grupo O (Obesos)

Você está sendo convidado a participar, como voluntário, de uma pesquisa. Após o conhecimento das informações a seguir, você poderá decidir sobre sua participação ou não neste projeto, sem perda do direito de receber os cuidados médicos de rotina ou quaisquer outros benefícios aos quais tenha direito na assistência médica regular na clínica habitual, qualquer que seja sua decisão.

Título do Projeto de Pesquisa: Ingestão aguda de lipídeos e alteração da perfusão cerebral de pacientes obesos

Local da Pesquisa: Seção de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Av. Bandeirantes, 3900 – Bairro Monte Alegre – CEP: 14048-900 – Fone/FAX: (16) 3602-2596 – E-mail: nucmed@hcrp.usp.br.

Pesquisadores responsáveis:

- Cristiane Maria Mártires de Lima. Médica Nutróloga. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Telefones: (16) 3633-0036/3602-2448 Fax: (16) 3633-6695.
- Prof. Dr. Júlio Sérgio Marchini. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto- USP. Telefone: (16) 3633-0036/3602-2448 Fax: (16) 3633-6695.
- Prof. Dr. Lauro Wichert Ana. Seção de Medicina Nuclear - Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto FMRP - USP. Telefone: (16) 3602-2596.

Justificativa e Objetivos da pesquisa

Esse projeto será realizado por mim, Cristiane Maria Mártires de Lima, médica Nutróloga, pós-graduanda da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HC) e meus orientadores. Queremos entender uma parte do que acontece para que uma pessoa fique gorda, mais exatamente que alterações o alimento pode fazer no cérebro da pessoa com esse problema.

Informações sobre os procedimentos que serão realizados

Serão realizados exames da cabeça com aparelho de Tomografia Computadorizada, Ressonância Magnética e também precisaremos retirar um pouco de seu sangue através de uma veia do seu braço para dosagem laboratorial de glicose, triglicérides e hormônios. Esses podem estar alterados na obesidade e são importantes para o estudo. O (A) senhor (a) será chamado (a) para internar em um leito do HC e permanecerá não mais que uma semana. Essa internação vai acontecer quando houver leito vago na enfermaria da Nutrologia do HC. No dia da internação, deverá comparecer em jejum para realização de um exame chamado calorimetria indireta. Para esse exame basta o jejum de 12 horas e que o senhor (a) fique deitado em uma cama como em posição de descanso. Vai ser colocada uma espécie de máscara por cima da sua cabeça enquanto fica deitado e vai ser pedido que apenas respire normalmente. Se for preciso, por motivo de doença durante a internação, o (a) senhor (a) receberá toda assistência disponível no hospital, só recebendo alta quando estiver em boas condições. Vamos realizar dois exames de Tomografia, sendo necessário ficar em jejum por doze horas antes de cada um. No restante do tempo o senhor (a) receberá uma alimentação adequada. Durante os exames de tomografia, será coletado um pouco do seu sangue antes e depois de o (a) senhor (a) tomar pela boca uma pequena quantidade de óleo ou água. O pesquisador não saberá qual foi a engolida. Para realização dos exames de tomografia, um medicamento precisa ser administrado por uma veia de seu braço. O ECD-Tecnécio-99m. Esses exames de tomografia têm previsão de durar não mais que duas horas. Durante a semana de internação, o (a) senhor (a) receberá orientação alimentar para perda de peso e na alta será encaminhado (a) para a rede pública de saúde para que continue o tratamento de obesidade. Essa orientação será feita por mim, a responsável pelo projeto. Durante esse período de internação o médico acompanhará o senhor (a) todos os dias.

Desconfortos e Riscos Esperados

As injeções não apresentarão riscos ou prejuízos a você, mas poderão causar ligeira dor ou ardência, sangramento, hematoma ou inflamações nos locais de aplicação, queixas estas que podem acontecer após uma injeção na pele. O estudo será realizado em duas fases. Em cada etapa, o (a) Sr (Sra) receberá uma dose do radiofármaco Etilenodicisteína marcado com Tecnécio-99m (^{99m}Tc-ECD) na veia, que é utilizado para investigar várias doenças e também para estudar como o remédio é distribuído no cérebro, e fazer uma tomografia cerebral, um exame que fornece imagens do cérebro. Este radiofármaco possui pequena quantidade de radiação, mas na dose já aprovada para diagnóstico pelos órgãos reguladores sendo no Brasil, pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Quanto ao risco de efeitos colaterais,

raramente este radiofármaco pode causar alguns sintomas, tais como febre, dor de cabeça, dor no peito, vèrmelhidão na pele, tontura e náuseas. O óleo que o (a) Senhor (a) vai tomar é um tipo de gordura, um alimento. Assim, não se espera que o (a) Senhor (a) venha a apresentar qualquer problema com os exames. O Sr. (Sra.) será avaliado por médico caso sinta algum desconforto durante a realização dos exames.

Privacidade

A sua privacidade será respeitada, ou seja, o seu nome ou qualquer outro dado que possa de alguma forma identificá-lo (a) não serão revelados nunca. Os dados deste estudo serão mantidos em um banco de dados da Seção de Medicina Nuclear do Hospital das Clínicas – FMRP – USP.

Benefícios que se pode obter

O (A) senhor (a) foi escolhido (a) porque tem obesidade. O motivo de fazermos essa pesquisa é tentar entender porque a pessoa engorda e conseguir, no futuro, tratar melhor as pessoas com esse problema. Isto não significa que a presente pesquisa tenha algum resultado benéfico e atual para você.

Custos

O senhor (a) não ganhará nada e não gastará nada para participar nesse projeto. No entanto, poderá ser ou não oferecida uma ajuda de custo no valor de cinquenta reais, a depender de aprovação, apenas para cobrir os seus gastos com o transporte e alimentação em cada vinda ao Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. O (A) senhor (a) pode decidir aceitar ou não essa ajuda, como achar melhor.

ConsentimentoPós-Informação

Eu,_____, fui informado (a) sobre o que a pesquisadora quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto "Ingestão aguda de lipídeos e alteração da perfusão cerebral de pacientes obesos". Fui devidamente informado (a) em detalhes pelo (s) pesquisador (es) responsável (eis) no que diz respeito aos objetivos da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido (a), aos riscos e benefícios e quanto à garantia de sigilo sobre os meus dados clínicos e de identificação. Fui informado (a) de que será assegurada a minha assistência médica durante toda a pesquisa, bem como terei livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre esta pesquisa e suas consequências. Entendi que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento, assistência médica, diagnóstica e

tratamento. Entendi que está sendo me oferecida uma ajuda de custo, apenas para me ajudar nos gastos com transporte e alimentação e que não estou sendo pago (a) para participar dessa pesquisa. Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade de participar desse estudo.Estou recebendo uma cópia deste documento, assinada, que vou guardar.

Para qualquer outra informação o senhor (a) poderá entrar em contato comigo pelo telefone (16) 3633-0036/3602-2448 Fax: (16) 3633-6695 ou pelo e-mail cris_martires@hotmail.com.

Nome do participante: _____RG:_____

Ass.:_____.

Pesquisadora Responsável: Cristiane Maria Mártires de Lima- CRMSP: 136885

Ass.:_____.

Data:___/____/_____, Ribeirão Preto.

Apêndice 3 – Códigos dos tubos das coletas de sangue e microtubos das amostras de soro

Voluntária	fase	Códigos nos tubos de tampas cinza e vermelho				
		Tempo zero	Tempo 30'	Tempo 60'	Tempo 90'	Tempo 120'
NOBES_1	A	NOBES_1_A_1	NOBES_1_A_2	NOBES_1_A_3	NOBES_1_A_4	NOBES_1_A_5
NOBES_1	L	NOBES_1_L_1	NOBES_1_L_2	NOBES_1_L_3	NOBES_1_L_4	NOBES_1_L_5
OBES_1	A	OBES_1_A_1	OBES_1_A_2	OBES_1_A_3	OBES_1_A_4	OBES_1_A_5
OBES_1	L	OBES_1_L_1	OBES_1_L_2	OBES_1_L_3	OBES_1_L_4	OBES_1_L_5
NOBES_2	A	NOBES_2_A_1	NOBES_2_A_2	NOBES_2_A_3	NOBES_2_A_4	NOBES_2_A_5
NOBES_2	L	NOBES_2_L_1	NOBES_2_L_2	NOBES_2_L_3	NOBES_2_L_4	NOBES_2_L_5
OBES_2	A	OBES_2_A_1	OBES_2_A_2	OBES_2_A_3	OBES_2_A_4	OBES_2_A_5
OBES_2	L	OBES_2_L_1	OBES_2_L_2	OBES_2_L_3	OBES_2_L_4	OBES_2_L_5
NOBES_3	A	NOBES_3_A_1	NOBES_3_A_2	NOBES_3_A_3	NOBES_3_A_4	NOBES_3_A_5
NOBES_3	L	NOBES_3_L_1	NOBES_3_L_2	NOBES_3_L_3	NOBES_3_L_4	NOBES_3_L_5
OBES_3	A	OBES_3_A_1	OBES_3_A_2	OBES_3_A_3	OBES_3_A_4	OBES_3_A_5
OBES_3	L	OBES_3_L_1	OBES_3_L_2	OBES_3_L_3	OBES_3_L_4	OBES_3_L_5
NOBES_4	A	NOBES_4_A_1	NOBES_4_A_2	NOBES_4_A_3	NOBES_4_A_4	NOBES_4_A_5
NOBES_4	L	NOBES_4_L_1	NOBES_4_L_2	NOBES_4_L_3	NOBES_4_L_4	NOBES_4_L_5
OBES_4	A	OBES_4_A_1	OBES_4_A_2	OBES_4_A_3	OBES_4_A_4	OBES_4_A_5
OBES_4	L	OBES_4_L_1	OBES_4_L_2	OBES_4_L_3	OBES_4_L_4	OBES_4_L_5
NOBES_5	A	NOBES_5_A_1	NOBES_5_A_2	NOBES_5_A_3	NOBES_5_A_4	NOBES_5_A_5
NOBES_5	L	NOBES_5_L_1	NOBES_5_L_2	NOBES_5_L_3	NOBES_5_L_4	NOBES_5_L_5
OBES_5	A	OBES_5_A_1	OBES_5_A_2	OBES_5_A_3	OBES_5_A_4	OBES_5_A_5
OBES_5	L	OBES_5_L_1	OBES_5_L_2	OBES_5_L_3	OBES_5_L_4	OBES_5_L_5
NOBES_6	A	NOBES_6_A_1	NOBES_6_A_2	NOBES_6_A_3	NOBES_6_A_4	NOBES_6_A_5
NOBES_6	L	NOBES_6_L_1	NOBES_6_L_2	NOBES_6_L_3	NOBES_6_L_4	NOBES_6_L_5
OBES_6	A	OBES_6_A_1	OBES_6_A_2	OBES_6_A_3	OBES_6_A_4	OBES_6_A_5
OBES_6	L	OBES_6_L_1	OBES_6_L_2	OBES_6_L_3	OBES_6_L_4	OBES_6_L_5
NOBES_7	A	NOBES_7_A_1	NOBES_7_A_2	NOBES_7_A_3	NOBES_7_A_4	NOBES_7_A_5
NOBES_7	L	NOBES_7_L_1	NOBES_7_L_2	NOBES_7_L_3	NOBES_7_L_4	NOBES_7_L_5
OBES_7	A	OBES_7_A_1	OBES_7_A_2	OBES_7_A_3	OBES_7_A_4	OBES_7_A_5
OBES_7	L	OBES_7_L_1	OBES_7_L_2	OBES_7_L_3	OBES_7_L_4	OBES_7_L_5
NOBES_8	A	NOBES_8_A_1	NOBES_8_A_2	NOBES_8_A_3	NOBES_8_A_4	NOBES_8_A_5
NOBES_8	L	NOBES_8_L_1	NOBES_8_L_2	NOBES_8_L_3	NOBES_8_L_4	NOBES_8_L_5
OBES_8	A	OBES_8_A_1	OBES_8_A_2	OBES_8_A_3	OBES_8_A_4	OBES_8_A_5
OBES_8	L	OBES_8_L_1	OBES_8_L_2	OBES_8_L_3	OBES_8_L_4	OBES_8_L_5
NOBES_9	A	NOBES_9_A_1	NOBES_9_A_2	NOBES_9_A_3	NOBES_9_A_4	NOBES_9_A_5
NOBES_9	L	NOBES_9_L_1	NOBES_9_L_2	NOBES_9_L_3	NOBES_9_L_4	NOBES_9_L_5
OBES_9	A	OBES_9_A_1	OBES_9_A_2	OBES_9_A_3	OBES_9_A_4	OBES_9_A_5
OBES_9	L	OBES_9_L_1	OBES_9_L_2	OBES_9_L_3	OBES_9_L_4	OBES_9_L_5
NOBES_10	A	NOBES_10_A_1	NOBES_10_A_2	NOBES_10_A_3	NOBES_10_A_4	NOBES_10_A_5
NOBES_10	L	NOBES_10_L_1	NOBES_10_L_2	NOBES_10_L_3	NOBES_10_L_4	NOBES_10_L_5
OBES_10	A	OBES_10_A_1	OBES_10_A_2	OBES_10_A_3	OBES_10_A_4	OBES_10_A_5
OBES_10	L	OBES_10_L_1	OBES_10_L_2	OBES_10_L_3	OBES_10_L_4	OBES_10_L_5

Legenda: OBES, mulheres com obesidade; NOBES, mulheres sem obesidade, Fase A, água; fase L, lipídeo.

Voluntária	fase	Códigos nos microtubos com soro dos tubos de tampa cinza				
		Tempo zero	Tempo 30'	Tempo 60'	Tempo 90'	Tempo 120'
NOBES_1	A	26	28	30	32	34
NOBES_1	L	1	4	7	10	13
OBES_1	A	61	63	65	67	69
OBES_1	L	36	39	42	45	48
NOBES_2	A	96	98	100	102	104
NOBES_2	L	71	74	77	80	83
OBES_2	A	131	133	135	137	139
OBES_2	L	106	109	112	115	118
NOBES_3	A	166	168	170	172	174
NOBES_3	L	141	144	147	150	153
OBES_3	A	201	203	205	207	209
OBES_3	L	176	179	182	185	188
NOBES_4	A	236	238	240	242	244
NOBES_4	L	211	214	217	220	223
OBES_4	A	271	273	275	277	279
OBES_4	L	246	249	252	255	258
NOBES_5	A	306	308	310	312	314
NOBES_5	L	281	284	287	290	293
OBES_5	A	341	343	345	347	349
OBES_5	L	316	319	322	325	328
NOBES_6	A	376	378	380	382	384
NOBES_6	L	351	354	357	360	363
OBES_6	A	411	413	415	417	419
OBES_6	L	386	389	392	395	398
NOBES_7	A	446	448	450	452	454
NOBES_7	L	421	424	427	430	433
OBES_7	A	481	483	485	487	489
OBES_7	L	456	459	462	465	468
NOBES_8	A	516	518	520	522	524
NOBES_8	L	491	494	497	500	503
OBES_8	A	551	553	555	557	559
OBES_8	L	526	529	532	535	538
NOBES_9	A	586	588	590	592	594
NOBES_9	L	561	564	567	570	573
OBES_9	A	621	623	625	627	629
OBES_9	L	596	599	602	605	608
NOBES_10	A	656	658	660	662	664
NOBES_10	L	631	634	637	640	643
OBES_10	A	691	693	695	697	698
OBES_10	L	666	669	702	705	708

Legenda: OBES, mulheres com obesidade; NOBES, mulheres sem obesidade, Fase A, água; fase L, lipídeo.

Voluntária	fase	Códigos nos microtubos com soro dos tubos de tampa vermelha				
		Tempo zero	Tempo 30'	Tempo 60'	Tempo 90'	Tempo 120'
NOBES_1	A	27	29	31	33	35
NOBES_1	L	2, 3	5,6	8,9	11,12	14,15
OBES_1	A	62	64	66	68	70
OBES_1	L	37,38	40,41	43,44	46,47	49,50
NOBES_2	A	97	99	101	103	105
NOBES_2	L	72,73	75,76	78,79	81,82	84,85
OBES_2	A	132	134	136	138	140
OBES_2	L	107,108	110,111	113,114	116,117	119,120
NOBES_3	A	167	169	171	173	175
NOBES_3	L	142,143	145,146	148,149	151,152	154,155
OBES_3	A	202	204	206	208	210
OBES_3	L	177,178	180,181	183,184	186,187	189,190
NOBES_4	A	237	239	241	243	245
NOBES_4	L	212,213	215,216	218,219	221,222	224,225
OBES_4	A	272	274	276	278	280
OBES_4	L	247,248	250,251	253,254	256,257	259,260
NOBES_5	A	307	309	311	313	315
NOBES_5	L	282,283	285,286	288,289	291,292	294,295
OBES_5	A	342	344	346	348	350
OBES_5	L	317,318	320,321	323,324	326,327	329,330
NOBES_6	A	377	379	381	383	385
NOBES_6	L	352,353	355,356	358,359	361,362	364,365
OBES_6	A	412	414	416	418	420
OBES_6	L	387,388	390,391	393,394	396,397	399,400
NOBES_7	A	447	449	451	453	455
NOBES_7	L	422,423	425,426	428,429	431,432	434,435
OBES_7	A	482	484	486	488	490
OBES_7	L	457,458	460,461	463,464	466,467	469,470
NOBES_8	A	517	519	521	523	525
NOBES_8	L	492,493	495,496	498,499	501,502	504,505
OBES_8	A	552	554	556	558	560
OBES_8	L	527,528	530,531	533,534	536,537	539,540
NOBES_9	A	587	589	591	593	595
NOBES_9	L	562,563	565,566	568,569	571,572	574,575
OBES_9	A	622	624	626	628	630
OBES_9	L	597,598	600,601	603,604	606,607	609,610
NOBES_10	A	657	659	661	663	665
NOBES_10	L	632,633	635,636	638,639	641,642	644,645
OBES_10	A	692	694	696	698	700
OBES_10	L	667,668	670,671	673,674	676,677	679,680

Legenda: OBES, mulheres com obesidade; NOBES, mulheres sem obesidade, Fase A, água; fase L, lipídeo.

Apêndice 4 - Correção de atenuação e reconstrução

Voluntária	Butterwoth Cutoff	Orientação		
		Azimuth (°)	Elevation (°)	Twist (°)
OBES_1_LIP	0,3	359,5	273,5	358
OBES_1_ÁGUA	0,29	359	276,5	4,5
NOBES_1_LIP	0,24	359,5	252	355,5
NOBES_1_ÁGUA	0,25	1	261,5	0,5
OBES_2_LIP	0,22	2,5	267	357
OBES_2_ÁGUA	0,23	3	277	358
NOBES_2_LIP	0,23	359,5	267	359,5
NOBES_2_ÁGUA	0,23	0	268,5	358,4
OBES_3_LIP	0,23	2	264	355,3
OBES_3_ÁGUA	0,22	358	264	352,8
NOBES_3_LIP	0,25	2	259,5	1,5
NOBES_3_ÁGUA	0,23	1	265	1
OBES_4_LIP	0,29	359	270	1
OBES_4_ÁGUA	0,28	354,6	270	1,5
NOBES_4_LIP	0,29	359	275,5	358
NOBES_4_ÁGUA	0,29	1,5	272,5	357
OBES_5_LIP	0,28	0	262,5	4
OBES_5_ÁGUA	0,29	356	269	355
NOBES_5_LIP	0,32	359,5	263,5	1,5
NOBES_5_ÁGUA	0,29	359	264	355
OBES_6_LIP	0,27	356	275	358,5
OBES_6_ÁGUA	0,3	359	274	357,5
NOBES_6_LIP	0,3	1,5	276	0,5
NOBES_6_ÁGUA	0,3	2,5	263	358
OBES_7_LIP	0,23	359	257,5	356,1
OBES_7_ÁGUA	0,25	1,5	263,5	1,9
NOBES_7_LIP	0,3	358,5	272,5	3,1
NOBES_7_ÁGUA	0,33	1,5	262	3,9
OBES_8_LIP	0,28	353,5	283	356
OBES_8_ÁGUA	0,32	0	272	356,4
NOBES_8_LIP	0,28	3,6	267,5	2

NOBES_8_ÁGUA	0,27	359	271,5	357,5
OBES_9_LIP	0,29	354	280	0,5
OBES_9_ÁGUA	0,3	0,5	277	356,5
NOBES_9_LIP	0,28	355,5	290	359
NOBES_9_ÁGUA	0,28	357,5	276,5	1,5
OBES_10_LIP	0,31	0,5	259,5	358,9
OBES_10_ÁGUA	0	263	263	356,4
NOBES_10_LIP	0,27	2	276	2
NOBES_10_ÁGUA	0,31	1,5	267,5	0,9

Apêndice 5 - Banco de Dados

id	grupo	fase	idade	peso	altura	imc	pas	pad	vo2	vco2	qr	ree	resis	xc
1	nobes	lip	27.91	56.3	1.69	19.71	120	70	208.56	169.16	0.81	1436.86	594.3	69.7
2	nobes	lip	29.85	60.7	1.695	21.13	100	60	225.85	199.86	0.88	1585.66	599.3	65.4
3	nobes	lip	30.93	49.9	1.59	19.74	100	60	181.42	142.8	0.79	1242.15	661.3	76.7
4	nobes	lip	34.07	46.5	1.575	18.75	100	60	158.08	136.17	0.86	1103.23	595.3	67.5
5	nobes	lip	34.78	64.9	1.705	22.33	120	80	198.49	155.333	0.78	1357.39	631.6	78.7
6	nobes	lip	27.4	73	1.77	23.3	110	80	205.28	168.48	0.82	1417.8	625.2	67
7	nobes	lip	24.7	63.8	1.66	23.15	110	60	168.79	125.93	0.75	1143.31	643.6	68.9
8	nobes	lip	39.12	50.7	1.61	19.56	106	70	168.495	167.047	0.99	1214.95	680.6	87.6
9	nobes	lip	22.65	63.8	1.67	22.88	100	70	177.469	137.089	0.77	1210.44	657.9	76.3
10	nobes	lip	30.73	57.7	1.69	20.2	112	78	188.178	127.331	0.68	1251.37	582.9	64.4
1	obes	lip	33.62	96.6	1.64	35.92	127	80	265.01	201.24	0.76	1801.38	549.9	65.2
2	obes	lip	25.85	96.8	1.7	33.49	130	70	233.99	212.33	0.91	1652.22	475.4	58.6
3	obes	lip	19.39	78.8	1.57	31.97	130	80	223.93	174.93	0.78	1530.81	556.1	75
4	obes	lip	28.52	100.8	1.665	36.36	120	78	259.85	216.7	0.83	1800.77	521.2	66.9
5	obes	lip	38.96	87.8	1.64	32.64	163	65	220.27	165.61	0.75	1495.35	484.5	56.8
6	obes	lip	30.02	88.6	1.65	32.54	120	80	196.17	170.47	0.87	1371.74	598.5	72.6
7	obes	lip	26.73	88.2	1.55	36.71	120	80	204.51	184.25	0.9	1441.65	488.7	67.4
8	obes	lip	29.34	99.1	1.6	38.71	90	50	235.23	170.27	0.72	1584	448.5	57.9
9	obes	lip	31.57	89.6	1.7	31	100	70	218.2	197.03	0.9	1539	582.6	69.2
10	obes	lip	39.01	88.8	1.565	36.26	120	80	233.21	163.46	0.7	1560.9	502.9	68
1	nobes	água	27.98	55.8	1.69	19.54	110	70	204.77	163.82	0.8	1406.69	627.2	68.5
2	nobes	água	29.91	60.8	1.695	21.16	100	50	230.12	165.69	0.72	1548.06	600	64.8
3	nobes	água	30.83	50.1	1.59	19.82	90	60	187.48	131.35	0.7	1254.73	671.1	79.6
4	nobes	água	34.13	46.7	1.575	18.83	100	60	148.2	128.51	0.86	1035.8	600.7	68.1
5	nobes	água	34.63	65.3	1.705	22.46	100	70	196.22	137.38	0.7	1313.08	584.9	69.3
6	nobes	água	27.5	72	1.77	22.98	90	60	183.97	166.95	0.9	1299.05	647.8	67.1
7	nobes	água	24.83	63.2	1.66	22.94	120	80	173.42	61.14	0.35	1053.1	677.8	74.7
8	nobes	água	39.18	51.8	1.61	19.98	100	70	159.43	135.1	0.84	1108.68	666.6	76.8
9	nobes	água	22.14	63.5	1.67	22.77	90	64	208.99	159.57	0.76	1422.13	691.4	77.6
10	nobes	água	30.66	57.6	1.69	20.17	112	78	159.938	124.041	0.77	1091.75	614.6	66.5
1	obes	água	33.68	95.4	1.64	35.47	110	70	255.18	183.29	0.71	1715.9	518.6	60.5
2	obes	água	26.29	94.7	1.7	32.77	110	60	274.64	212.49	0.77	1873.85	490.5	61.6

3	obes	água	19.01	79	1.57	32.05	110	70	210	171.64	0.81	1449.09	614	84
4	obes	água	28.42	100.5	1.665	36.25	110	80	231.44	194.99	0.84	1607.44	513.1	70.1
5	obes	água	39.13	88.6	1.64	32.94	100	60	217.23	167.6	0.77	1481.3	500.6	59.6
6	obes	água	30.44	89.3	1.65	32.8	120	80	205.75	192.1	0.93	1462.44	626.8	78
7	obes	água	26.67	88.4	1.55	36.8	120	80	133.51	123.59	0.92	947.06	516.8	73.1
8	obes	água	29.2	100.3	1.6	39.18	120	80	192.8	185.68	0.96	1380.47	462.8	57.1
9	obes	água	31.55	90.7	1.7	31.38	110	80	212.98	193.45	0.9	1504.2	566.4	68.5
10	obes	água	39.26	88.9	1.565	36.3	100	80	257.17	105.94	0.41	1588.92	482.8	71.1
1	nobes	triagem	27.81	56.3	1.69	19.71	120	70						
2	nobes	triagem	29.82	61	1.7	21.23	120	70						
3	nobes	triagem	30.74	50.2	1.59	19.86	100	60						
4	nobes	triagem	33.92	46.4	1.58	18.7	80	50						
5	nobes	triagem	34.35	64	1.71	22.02	110	60						
6	nobes	triagem	27.33	74	1.77	23.62	110	60						
7	nobes	triagem	24.49	63.6	1.66	23.08	90	50						
8	nobes	triagem	39.05	51.9	1.61	20.02	110	70						
9	nobes	triagem	22.09	63.8	1.67	22.88	116	74						
10	nobes	triagem	30.6	56.2	1.69	19.68	112	78						
1	obes	triagem	33.47	101	1.64	37.55	128	76						
2	obes	triagem	25.74	96.8	1.7	33.49	130	70						
3	obes	triagem	18.83	78.4	1.57	31.81	90	60						
4	obes	triagem	28.23	100.6	1.67	36.29	110	80						
5	obes	triagem	38.85	90.1	1.64	33.5	120	80						
6	obes	triagem	29.97	87.2	1.65	32.03	120	80						
7	obes	triagem	26.57	88.4	1.55	36.8	120	80						
8	obes	triagem	29.11	99.4	1.6	38.83	110	60						
9	obes	triagem	31.41	88.6	1.7	30.66	120	80						
10	obes	triagem	38.81	88.8	1.57	36.26	130	70						

fm	gli0	gli30	gli60	gli90	gli120	trig0	trig30	trig60	trig90	trig120	insul0	insul30	insul60	insul90
15.02	72.1	65.94	71.84	59.17	67.66	113	118	105	122	134	2.4	2.56	3.58	3.5
17.45	87.5	78.99	78.85	84.1	74.43	86.6	91.9	102	123	167	5.3	6.35	3.89	7.91
12.7	71.4	85.56	77.51	72.2	81.52	89.8	96.4	92.3	110	97.9	10	8.06	4.42	5.32
9.5	79.6	70.53	75.25	71.13	74.99	31	24	40.8	42.2	49.8	7.8	7.16	3.89	3.32
19.94	79.9	73.9	78.43	67.37	76.88	73.4	81.2	57.9	79.7	103	1.5	4.84	2.5	3.89
25.57	73.6	73.26	68.16	69.94	66.72	41.8	48.3	47.1	47.8	65.8	3.6	4.84	4.58	5.42
22.03	65.9	65.42	62.79	63.9	61.66	92.3	92.9	101	102	123	1	4.01	0.904	3.21
11.98	80	77.48	81.5	87.56	86.16	66.5	67	71.8	63.8	69.3	2	7.75	1.37	7.31
21.29	77.8	76.31	75.17	76.23	79.08	87.3	92	97.1	124	130	6.6	7.45	1.74	4.75
14.72	86.6	89.12	77.46	90.41	78.3	53.5	45	78	79.6	78.4	5.5	5.98	4.07	4.5
42.51	87.1	76.47	84.01	81.49	81.84	73.1	83.7	54.1	61.4	67.9	15	10.2	9.19	9.78
39.44	77.8	78	61.1	82.87	67.64	67	78.7	61.1	98.6	78.8	2.1	3.32	2.74	1.74
31.99	83.3	83.47	76.32	80.55	75.79	74.1	69.4	67.5	82.9	99.3	12	13.4	13.4	10.8
41.47	77.4	75.65	75.59	67.13	72.39	66.6	67.9	63.6	56	79.3	11	14.6	8.7	9.78
35.48	85.8		90.34	89.55	78.79	85.8		81.2	92.2	97.5	2.6		3.29	13.2
39.24	71.2	78.55	64.16	77.2	69.67	114	122	107	113	125	3	6.29	1.37	4.35
34.91	76.5	78.17	69.02	76.15	80.23	70.4	85	77.8	83.6	85.3	1.5	14.9	1.37	10.9
38.53	60.1	86.17	79.3	82.08	54.86	44.1	45.4	40	58	19.7	3.2	13.2	5.32	5.87
38.31	73.9	76.01	73.47	73.2	81.92	86.8	96.7	82.7	87.6	119	4.5	5.22	1.37	3.63
37.18	83.2	84.84	79.42	78.42	79.53	110	110	101	123	135	15	11.3	1.99	5.53
14.52	75.2	68.08	73.35	68.56	64.88	122	91.7	101	95.5	99.7	1.5	1.74	1.67	1.47
17.63	76.5	82.32	75.53	80.81	78.58	64	83.5	76.1	68.9	86.8	1.3	1.74	1.57	2.05
12.77	56.4	74.73	62.97	81.11	78.66	76.6	72.7	91.4	83.3	96.3	2.9	1.74	2.6	2.05
9.77	71.7	75.93	73.43	78.02	91.62	38.7	46.4	46.9	42.8	46.4	2.2	1.86	3.35	3.72
19.57	72.4	74.85		71.79	80.34	85.5	76.5	75.5	109	86.5	1.7	1.49	1.82	4.01
25.7	75.4	70.34	67.7	65.13	62.46	32.2	33.4	31.3	32.6	36	5.3	1.62	5.42	5.87
21.93	63.5	66.4	65.79	67.76	66.29	97	106	89.3	100	92.2	2	1.49	3.54	2.71
13.81	84.7	80.7	86.32	84.6	82.43	98.8	95.8	120	120	114	3.7	2.5	6.75	5.02
21.95	76.3	76.21	78.91	83.65	78.17	90.1	68	66.2	101	105	6.3	2.12	4.01	2.86
15.68	78.7	81	78.02	83.28	81.49	64.1	50	57.3	58.5	49.9	3.7	1.62	3.35	2.42
38.5	79.5	79.53	81.26	82.18	80.2	108	102	102	106	98.3	2.2	2.24	2.51	2.6
38.4	82	78.19	76.6	83.5	82.21	61.6	57.7	57.9	61.9	61.5	2.6	1.86	1.86	2.05

33.14	82.3	78.47	71.32	75.77	79.6	105	101	102	104	113	3	7.91	6.68	3.89
40.42	85.1	81.79	83.53	80.69	83.42	50.7	38.5	49.4	45.3	48.6	2	1.99	3.72	9.11
36.66	81.2	81.68	78.5	80.45	84.21	30.6	35	42.6	35.9	32.5	5.2	2.37	6.61	11.7
40.14	75.7	78.54	78.53	68.13	77.71	97.3	98.3	92.7	95.4	96.3	3.7	1.74	5.7	5.12
37.63	47.7	78.82	76.99	78.35	84.31	111	129	122	114	123	9.4	2.37	8.86	5.02
41	81.7	86.64	84.51	83.68	84.76	24.2	37.7	46.1	42.7	29.7	51	18.9	71.1	14.2
38.52	74.1	79.61	83.18	78.19	81.37	88.8	76.8	89.7	74.1	81.7	9.4	2.37	5.7	3.12
35.51	89.9	88.2	83.73	87.73	96.84	113	108	107	106	117	18	6.11	8.06	8.54

insul120	lep0	lep30	lep60	lep90	lep120	exp_1_aum	exp_1_red	exp_2_aum	exp_3_aum	exp_3_red	exp_4_red
2.74	0.95	0.85	0.69	0.76	0.86	76.02	79.29	82.75	76.34	62.66	76.04
7.16	3.64	3.56	2.9	3.3	3.1	74.41	81.9	79.92	75.17	64	76.34
5.32	1.97	1.84	1.5	1.8	1.7	73.59	81.57	77.77	74.61	64.62	76.32
5.98	3.89	2.88	2.7	2.6	2.9	73.42	80.49	80.32	76.88	64.95	73.41
3.54	4.32	5.05	3.8	4.6	3.4	72.32	85.16	78.43	75.62	65.45	73.11
3.63	2.41	2.25	3.9	3.5	5	74.18	80.82	81.07	79.82	63.36	73.14
1.67	2.86	4.71	2.5	5.1	2.8	72.22	81.22	74.53	79.99	63.1	75.23
5.48	3.97	6.41	2.5	6.2	5	74.01	79.13	80.27	76.17	62.63	75.23
3.78	19.6	17.1	9	13	11	74	77.78	78.79	78.61	63.19	74.37
4.93	6.87	5.22	6.1	4.6	5.8	73.2	77.95	77.52	79.09	62.12	75.2
9.19	7.27	7.16	7	7.4	7.7	76.28	79.04	84.01	78.22	65.55	73.01
2.38	4.13	3.83	3.6	4.8	2.8	75.87	79.98	82.9	72.9	64.71	74.79
11.7	6.64	6.76	6.8	6.5	6.8	76.39	77.15	84.22	75.4	62.84	76.54
10	45.4	36.3	7.2	7.4	7.2	75.65	77.24	83.43	73.63	62.57	75.09
8.38	2.77		2.9	4.9	2.8	74.74	82.35	82.43	74.11	65.08	72.78
3.35	24.9	23.2	5.1	34	22	75.51	75.68	84.81	76.87	61.37	72.94
6.23	8.59	19.6	8	22	14	76.68	79.86	82.21	74.25	64.74	75.75
5.53	25.8	43.3	24	22	23	75.86	80.37	83.27	81.18	63.2	73.3
2.95	24.5	32.2	11	19	17	75.94	78.22	82.28	79.65	62.35	74.57
69.9	18.9	13	6	12	16	76.83	78.91	86.38	72.88	65.44	75.11
1.77	0.58	0.611	0.43	0.38	0.36	73.44	81.16	78.01	74.8	64.56	77.11
1.57	2.14	2.17	2	1.9	1.9	74.97	81.11	83.7	73.2	66.9	74.77
2.51	1.47	1	0.92	0.75	0.8	75.54	79.95	83.35	73.05	64.81	76.33
5.48	1.32	0.891	1	0.79	2.3	73.97	79.29	80.46	75.28	64.8	75.35
2.14	2.81	2.81	0.02	3.4	2.6	72.51	85.37	79.95	73.78	67.04	73.68
3.35	6.31	3.46	6.8	8.4	5	72.16	82.94	78.6	75.47	66.48	72
2.05	9.04	7.36	10	8.4	6.9	70.1	82.02	73.28	75.75	65.88	74.32
4.14	6.99	4.96	8.2	6.1	5.4	73.86	80.13	79.24	73.5	64.7	77.15
1.96	18	11.5	18	13	10	71.58	83.4	75.68	74.49	66.17	75.35
3.21	2.14	1.9	1.9	1.4	1.6	72.76	79.31	78.03	77.37	66.2	74.36
2.42	11.2	11.3	14	14	12	77.53	77.76	84.48	77.83	63.72	76.33
1.96	3.4	3.77	2.8	2.6	2.5	78.07	78.36	87.95	73.34	63.89	76.59

3.3	10	10.6	8.6	5.4	5.2	76.3	77.55	81.05	75.36	62.8	78.82
5.7	24.9	22.1	27	43	25	77.21	75.46	83.83	74.43	61.18	76.74
6.35	10	7.62	15	17	12	77.34	79.75	85.12	74.07	63.52	76.19
6.68	30.1	18.6	31	32	20	74.79	75.76	80.24	78.39	61.11	75.87
4.67	13.7	5.79	13	5.9	8.4	76.89	79	81.15	74.56	64.99	76.98
7.75	16.8	7.88	19	11	10	75.62	80.59	81.09	78.93	64.82	75.1
4.84	19.9	10.4	17	12	17	78.05	75.96	84.25	76.89	62.81	78.09
10	46.8	31.1	37	24	39	77.28	77.06	84.34	74.18	63.84	77.7