

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

**BRUNO AFFONSO PARENTI DE OLIVEIRA**

**Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético de indivíduos  
obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica**

**Ribeirão Preto  
2015**

**BRUNO AFFONSO PARENTI DE OLIVEIRA**

**Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético de indivíduos  
obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Clínica Médica

Opção: Investigação Biomédica

Orientadora: Profa. Dra. Carla Barbosa Nonino

**Ribeirão Preto**

**2015**

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

### FICHA CATALOGRÁFICA

Oliveira, Bruno Affonso Parenti de

Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético de indivíduos obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica, 2015.

87f.: il.

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

Orientadora: Nonino, Carla Barbosa.

1. Obesidade
2. Cirurgia bariátrica
3. Taxa metabólica de repouso
4. Expressão gênica
5. Composição corporal.

Bruno Affonso Parenti de Oliveira

Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético de indivíduos obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica.

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Área de Concentração: Clínica Médica

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof.Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Aos meus pais e meu irmão o alicerce da  
minha vida e pelos ensinamentos inabaláveis.

## **AGRADECIMENTOS**

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da pesquisa, através da bolsa de mestrado processo nº (2013/ 06563-7) e auxílio à pesquisa regular.

Aos meus familiares, em especial meus pais Evandro e Rosangela que dedicam suas vidas em prol dos sonhos de seus filhos. Ao meu irmão Arthur pelos constantes momentos de risadas e companheirismo. Obrigado por toda dedicação, paciência, graças aos esforços imprescindíveis estou desfrutando esse momento, a realização de um sonho.

A minha orientadora Carla Barbosa Nonino pelos momentos únicos de aprendizado, discussões, trabalho em equipe, realmente uma grande pessoa que levarei como modelo em minha vida profissional.

A todos os integrantes do laboratório de estudos em nutrigênomica (LEN) pela oportunidade de aprender e vivenciar na prática o modo como um pesquisador pode contribuir com a sociedade. A Carolina Nicoletti uma grande companheira, na qual seus ensinamentos, conversas, nossos artigos produzidos foram de valor inestimado para meu crescimento pessoal e profissional.

A Marcela Pinhel, Cristiana Cortes e Drielle Quinhoneiro por todos os momentos de muito trabalho, organização, planejamento e crescimento desenvolvidos nesses dois anos de mestrado, sinônimo do verdadeiro trabalho em equipe.

A Priscila Fassini pela disponibilidade, paciência e ajuda nas coletas ao decorrer dessa jornada.

A equipe do centro de cirurgia bariátrica, principalmente ao Dr. Wilson Salgado Júnior pelo compromisso e contribuição na seleção e coleta de tecido adiposo dos pacientes e aos médicos João, Daniel, Gaspar e Akira.

Ao Centro de Medicina Genômica, Ana Júlia e a Natália Yumi sempre solicitas para explicar e guiar nas técnicas de biologia molecular.

As enfermeiras pela assistência e compreensão no uso da sala na unidade metabólica do HC.

Aos participantes do estudo pela compreensão diante da relevância do estudo e disponibilidade para todas as coletas.

Aos meus amigos que ao longo dessa jornada sempre estiveram me apoiando.

"No que diz respeito ao empenho, ao compromisso, ao esforço, à dedicação, não existe meio termo. Ou você faz uma coisa bem feita ou não faz."

(Ayrton Senna)



## RESUMO

OLIVEIRA, B.A.P. **Análise da expressão de genes relacionados ao gasto energético de indivíduos obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica.** 2015. 87f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2015.

A contribuição genética para o desenvolvimento da obesidade precisa ser esclarecida em intervenções para perda de peso, como é o caso da cirurgia bariátrica. Portanto, a análise da expressão gênica relacionada ao gasto energético e posterior associação com a taxa metabólica de repouso pode elucidar o entendimento de fatores genéticos que contribuem para a obesidade. Além disso, as informações genéticas expressas em determinados indivíduos, podem ajudar a esclarecer mecanismos relacionados à regulação energética e oxidação de substratos. Assim, o objetivo do presente trabalho foi verificar a expressão dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2*, em tecido adiposo subcutâneo abdominal e associar com medidas da taxa metabólica de repouso em indivíduos obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica. A amostra foi composta por 13 mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica pela técnica de derivação gástrica em Y de Roux e 10 mulheres eutróficas. Tratou-se de um estudo longitudinal, no qual foram coletadas medidas antropométricas de peso, estatura, índice de massa corporal, circunferência abdominal, composição corporal (massa corporal magra e massa gorda) pela bioimpedância elétrica, calorimetria indireta para mensurar a taxa metabólica de repouso e análise de expressão gênica pela técnica de PCR em tempo real. Foram observadas diferenças nas variáveis de peso, índice de massa corporal, circunferência abdominal, massa corporal magra, massa gorda e taxa metabólica de repouso entre os grupos do estudo. Houve diminuição dos valores absolutos da taxa metabólica de repouso ( $2.094 \pm 275$  vs  $1.863 \pm 210$  kcal,  $p=0,01$ ), porém quando ajustada pelo peso observou-se aumento ( $17,7 \pm 2,1$  vs  $20,4 \pm 2,1$  kcal/kg  $p=0,01$ ). A massa corporal magra no momento pós operatório exerceu influência de 29% na taxa metabólica de repouso por quilograma de peso, sendo que houve correlação positiva entre as duas variáveis ( $r=0,63$ ,  $p=0,02$ ). A expressão do gene *UCP2* apresentou diferença entre os dois momentos do estudo ( $p=0,01$ ). Houve influência dos genes *UCP2* e *PLIN1* na taxa metabólica de repouso por quilograma de peso no período pré operatório. O percentual de perda de peso foi influenciado pela expressão dos genes *UCP2* e *PLIN1* no período pré operatório. Conclui-se que as modificações proporcionadas pela cirurgia bariátrica aumentam a expressão dos genes e gasto energético de mulheres com obesidade grau III.

**Palavras-chave:** Obesidade. Cirurgia bariátrica. Taxa metabólica de repouso. Expressão gênica. Composição corporal.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, B.A.P. **Analysis of gene expression related to energy expenditure of obese grade III before and after bariatric surgery.** 2015. 87f. Dissertation (Master's degree) – Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo. Ribeirão Preto, 2015.

The contribution of genetic to the development of obesity need to be established accurately interventions for weight loss, as in the case of bariatric surgery. Therefore, the analysis of gene expression related to energy expenditure and subsequent association with the resting metabolic rate can elucidate the understanding of genetic factors that contribute to obesity. Furthermore, the genetic information expressed in certain individuals may help clarify regulatory mechanisms related to energy and substrate oxidation. The objective was to investigate the expression of genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1* and *PPARG2* in abdominal subcutaneous adipose tissue and associate it with measures of resting metabolic rate in grade III obese patients before and after bariatric surgery. The sample consisted of 13 obese women before and 6 months after bariatric surgery (gastric bypass Roux-Y technique) and 10 healthy women. This was a longitudinal study in which anthropometric measurements of weight were collected, height, body mass index, waist circumference, body composition (lean body mass and fat mass) by bioelectrical impedance, indirect calorimetry to measure the resting metabolic rate and gene expression was analysed by PCR real time. Differences in body weight, body mass index, waist circumference, lean body mass, fat mass and resting metabolic rate between the study groups. There was a decrease of the absolute values of the resting metabolic rate ( $2.094 \pm 275$  vs  $1863 \pm 210$  kcal,  $p=0,01$ ), but when adjusted for body weight an increase was observed ( $17,7 \pm 2,1$  vs  $20,4 \pm 2,1$  kcal/kg  $p=0,01$ ). Lean body mass in the post operative period influenced 29% in resting metabolic rate per kilogram of weight, and there was a positive correlation between resting metabolic rate and lean body mass ( $r=0,63$ ,  $p=0,02$ ). The expression of *UCP2* gene was different between the two sample points ( $p=0,01$ ). There was influence of *UCP2* and *PLIN1* genes in resting metabolic rate per kilogram of weight in the preoperative period. The percentage of weight loss was influenced by the *UCP2* gene and *PLIN1* preoperative period. We conclude that the modifications provided by bariatric surgery increase the gene expression and energy expenditure women with morbid obesity.

**Keywords:** Obesity. Bariatric surgery. Resting metabolic rate. Gene expression. Body composition.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Delineamento experimental do estudo.....	33
Figura 2 - Fotografia do aparelho de bioimpedância elétrica e representação dos eletrodos em uma avaliação.....	36
Figura 3 - Avaliação da taxa metabólica de repouso em pacientes com obesidade grau III .....	37
Figura 4 - Correlação entre TMR e MCM em pacientes com obesidade grau III antes da cirurgia bariátrica .....	47
Figura 5 - Correlação entre TMR e MCM em pacientes após 6 meses de cirurgia bariátrica.....	48
Figura 6 - Expressão gênica relativa do gene <i>ADRB3</i> em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica .....	49
Figura 7 - Expressão gênica relativa do gene <i>UCP1</i> em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica .....	49
Figura 8 - Expressão gênica relativa do gene <i>UCP2</i> em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica.....	50
Figura 9 - Expressão gênica relativa do gene <i>UCP3</i> em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica.....	50
Figura 10 - Expressão gênica relativa do gene <i>PLIN1</i> em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica .....	51
Figura 11 - Expressão gênica relativa do gene <i>PPARG2</i> em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica .....	51

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Cálculo para perda de peso em valores absolutos e porcentagem de mulheres com obesidade .....	35
Quadro 2 - Equação de JAKICIC (1998) para correção da MCM de mulheres obesas.....	36
Quadro 3 - Equação de Weir (1949) para estimativa da taxa metabólica de repouso.....	38
Quadro 4 - Sondas de hidrólise para os genes alvos.....	41
Quadro 5 - Sondas de hidrólise para os genes de referência .....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Antropometria, composição corporal e taxa metabólica de repouso de pacientes com obesidade grau III antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica (G1) e eutróficos (G2) .....	45
Tabela 2 - Taxa metabólica de repouso em termos absolutos e ajustados por peso e MCM nos períodos pré e pós operatório de 6 meses .....	46
Tabela 3 - Modelo de análise de regressão linear para variável dependente taxa metabólica de repouso .....	46
Tabela 4 - Análise de regressão linear múltipla mostrando a contribuição da expressão dos genes avaliados na TMR por kg de peso e ajustado por idade .....	52
Tabela 5 - Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão do gene <i>UCP2</i> na perda de peso (%).....	52
Tabela 6 - Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão do gene <i>PLIN1</i> na perda de peso (%).....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS

<i>ADRB3</i>	Beta-3-adrenoreceptor
<i>ASMBS</i>	<i>American Society for Metabolic and Bariatric Surgery</i>
CA	Circunferência abdominal
cDNA	DNA complementar
CI	Calorimetria indireta
CM	Centímetros
DGYR	Derivação gástrica em Y de Roux
DP	Desvio-padrão
ETA	Efeito térmico dos alimentos
G	Gramas
GEAF	Gasto energético da atividade física
GED	Gasto energético diário
HCFMRP-USP	Hospital das clínicas da faculdade de medicina de ribeirão preto
IMC	Índice de massa corporal
Kcal	Caloria
Kg	Quilograma
MCM	Massa corporal magra
MG	Massa gorda
M <sup>2</sup>	Metros ao quadrado
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>PLIN1</i>	Pirilipina1
%PP	Percentual de perda de peso
<i>PPARG2</i>	Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama
<i>PPARs</i>	Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma
qPCR	PCR em tempo real

RT- qPCR	Transcrição reversa por reação em cadeia da polimerase
SPSS	<i>Statistical Package for Social Science</i>
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TMR	Taxa metabólica de repouso
<i>UCPs</i>	Proteínas desacopladoras
<i>UCP1</i>	Proteína desacopladora 1
<i>UCP2</i>	Proteína desacopladora 2
<i>UCP3</i>	Proteína desacopladora 3

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
1.1 Obesidade .....	18
1.2 Taxa Metabólica de Repouso.....	20
1.3 Cirurgia Bariátrica.....	22
1.4 Genes.....	23
1.4.1 Beta-3-adrenoreceptor ( <i>ADRB3</i> ).....	24
1.4.2 Proteínas desacopladoras ( <i>UCPs</i> ).....	24
1.4.3 Pirilipina 1 ( <i>PLIN1</i> ) .....	25
1.4.4 Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama ( <i>PPARG2</i> )...26	
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>28</b>
2.1 Objetivos Específicos .....	28
<b>3 CASUÍSTICA E MÉTODOS</b> .....	<b>30</b>
3.1 Casuística.....	30
3.2 Critérios de Inclusão.....	30
3.3 Critérios de Exclusão.....	31
3.4 Delineamento do Estudo .....	31
3.5 Avaliação Nutricional.....	34
3.5.1 Antropometria.....	34
3.6 Avaliação da Taxa Metabólica de Repouso .....	37
3.7 Coleta de Tecido Adiposo .....	38
3.8 Análises da Expressão Gênica.....	39
3.8.1 Extração de RNA.....	39
3.8.2 Transcrição reversa por reação em cadeia da polimerase – RT- qPCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction) – Síntese de cDNA .....	40
3.8.3 Análise de expressão gênica – PCR em tempo real (qPCR) .....	40
3.8.4 Controle endógeno .....	41
3.9 Análise Estatística .....	42
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>44</b>



<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>55</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>67</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>69</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>86</b>

# *Introdução*

## **1 INTRODUÇÃO**

No presente tópico será realizada uma análise crítica sobre os temas diretamente relacionados ao desenvolvimento da dissertação. Dessa forma, serão abordados a obesidade, sua etiologia e consequências, a taxa metabólica de repouso, definição e importância no controle de peso corporal, a cirurgia bariátrica e as alterações proporcionadas na taxa metabólica de repouso no período pós-operatório, além da contribuição de determinados genes no gasto energético e desenvolvimento da obesidade.

### **1.1 Obesidade**

Atualmente a prevalência de indivíduos obesos é alarmante. Estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS) evidenciaram que em 2015 cerca de 2,3 bilhões de adultos estarão com sobrepeso e mais de 700 milhões serão obesos (MELO, 2014). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, uma pesquisa realizada em todas as capitais dos estados e do Distrito Federal verificou que o excesso de peso na população adulta atinge cerca de 51%, ou seja, a cada dez pessoas avaliadas cinco apresentaram índice de massa corporal (IMC) elevado. Estudos populacionais demonstram no período de 1974-1975 a 2008-2009, a prevalência de excesso de peso em mulheres aumentou de 28,7 para 48,0%, ao passo que os valores de obesidade dobraram de 8,0 para 16,9% no mesmo período (IBGE, 2010).

O excesso de gordura corporal está relacionado ao aumento do risco de desenvolvimento de diversas doenças, como hipertensão, diabetes e outras doenças

relacionadas ao sistema cardiovascular (HAIDAR & COSMAN, 2011). De acordo com o estudo conduzido por Mandal (2014), no qual avaliaram 300 indivíduos com sobrepeso e obesidade constataram a prevalência de hipertensão em 8,2% na população com sobrepeso e em 22,2% na população com obesidade, ao passo que a prevalência de diabetes tipo 2 em indivíduos com sobrepeso foi de 15,5% e em obesos de 20,2%. Aproximadamente 90% dos casos de diabetes tipo 2 está diretamente relacionado a obesidade, sendo que esses dados indicam prevalência de doenças de acordo com o aumento de peso (HAIDAR & COSMAN, 2011).

A OMS classifica a obesidade em adultos com base no IMC, e define-se baixo peso para IMC  $<18,5\text{kg/m}^2$ , eutrófico para IMC entre 18,5 e 24,9  $\text{kg/m}^2$ , sobrepeso para IMC entre 25 e 29,9  $\text{kg/m}^2$ , obesidade grau I para IMC entre 30 e 34,9  $\text{kg/m}^2$ , obesidade grau II para IMC de 35 a 39,9  $\text{kg/m}^2$  e obesidade grau III para IMC  $\geq 40\text{kg/m}^2$ . Ainda, de acordo com a *American Society for Metabolic and Bariatric Surgery (ASMBS)* são classificados como super obesos indivíduos com IMC entre 50 e 60  $\text{kg/m}^2$  e como super,super obesos quando apresentam IMC  $>60\text{kg/m}^2$ .

A obesidade está relacionada a diversas causas incluindo as genéticas, fisiológicas, metabólicas, ambientais, emocionais e culturais (FOUREAUX; PINTO; DÂMASO, 2006). A falta de exercícios físicos e a alimentação inadequada resultam em balanço energético positivo, o que significa aumento do peso corporal (MELO; TIRAPGUI; RIBEIRO, 2008). Nesse contexto, é necessário procedimentos para potencialização do gasto energético diário (GED), dessa maneira reduzindo a obesidade.

No entanto, avanços científicos indicam que o balanço energético, determinado pela energia ingerida e pela energia gasta, parece depender 40% da herança genética (MARQUES-LOPES et al., 2004), sendo que essa variação genética pode ajudar a esclarecer por que alguns indivíduos são mais propensos a

ganhar peso do que outros, nas mesmas condições ambientais (HESKETH et al., 2006).

## **1.2 Taxa Metabólica de Repouso**

O estudo sobre metabolismo energético teve início no século XVIII com os experimentos de Antoine Laurent Lavoisier que identificou o gás oxigênio, o qual combinado com substâncias combustíveis liberava calor (WAHRLICH & ANJOS, 2001). Para comprovar que a oxidação era a fonte de calor em animais, Lavoisier e Laplace desenvolveram o primeiro calorímetro direto, seguidos por Atwater e Rosa que aperfeiçoaram para avaliação do gasto energético em humanos, posteriormente esse aparelho foi denominado câmara calorimétrica (FONSECA & DUARTE, 2008).

A partir do século XX devido a questões de aplicabilidade prática e elevado custo, a calorimetria direta foi substituída pela calorimetria indireta (CI). A CI mede a produção de energia a partir das trocas gasosas do organismo com o meio ambiente, sendo calculada a partir dos equivalentes calóricos do oxigênio consumido e gás carbônico produzido (FRANKENFIELD; ROTH-YOUSEY COMPHER, 2005).

A CI é um método simples e não invasivo, difundido mundialmente para calcular o dispêndio energético de um indivíduo (DIENER, 1997). O GED compreende três componentes principais, a taxa metabólica de repouso (TMR), o efeito térmico dos alimentos (ETA) e o gasto energético da atividade física (GEAF) (SCHNEIDER & MEYER, 2007).

De acordo com Fonseca & Duarte (2008) a TMR é definida como a quantidade de energia necessária para o corpo humano manter os processos

fisiológicos normais durante o repouso, caracterizando-se como a principal componente do GED de indivíduos sedentários representando de 60 a 75% (HASSON et al., 2011). O ETA envolve a energia despendida na digestão, absorção e metabolismo dos alimentos (MELO; TIRAPGUI; RIBEIRO, 2008), sendo que o aumento do GED ocasionado pelo ETA tem sua intensidade e duração dependentes da quantidade e natureza dos nutrientes consumidos (MELO; TIRAPGUI; RIBEIRO, 2008; AMORIM & GOMES, 2003). O GEAF corresponde aproximadamente de 15 a 30% do GED, valores que podem sofrer modificações dependendo do nível de exercício físico realizado, por essa razão o GEAF é considerado o componente adaptável mais importante do gasto energético (AMORIM & GOMES, 2003).

A avaliação da TMR em programas de intervenção e controle de peso se tornou essencial para determinar as necessidades energéticas, a fim de verificar o balanço energético e delimitar a conduta ao paciente com obesidade (RUIZ et al., 2011). No entanto, quando analisados em populações distintas, nota-se uma variabilidade no valor da TMR, devido às variáveis que interferem em seu comportamento (DIENER, 1997).

As principais variações na medida da TMR são atribuídas às medidas antropométricas (SPEAKMAN & WESTERTERP, 2010). Dentre elas, destaca-se a massa corporal magra (MCM), sendo determinante no gasto energético e a massa gorda (MG) que possui correlação positiva com a TMR (BONGANHA et al., 2009). Estudos apresentam coeficientes de correlação mais elevados para estas variáveis em pacientes com obesidade em relação a eutróficos (FONSECA & DUARTE, 2008).

A literatura recente sugere uma contribuição genética para o desenvolvimento da obesidade, relacionando genes fundamentais no controle do peso e gasto

energético (SMITH & ORDOVÁS, 2012; DERAM & VILLARES, 2009). Portanto, a análise da expressão gênica relacionada ao gasto energético e posterior associação com a TMR pode elucidar o entendimento de fatores genéticos que contribuem para a obesidade. Além disso, as informações genéticas expressas em determinados indivíduos, podem ajudar a esclarecer mecanismos relacionados à regulação energética e oxidação de substratos.

### 1.3 Cirurgia Bariátrica

De acordo com Buchwald & Oien, no ano de 2011, foram totalizados 340.768 procedimentos operatórios, no qual Estados Unidos e Canadá realizaram 101.645, a segunda posição é ocupada pelo Brasil com um total de 65 mil procedimentos anuais.

A cirurgia bariátrica é indicada para indivíduos que apresentam IMC maior que  $40\text{kg/m}^2$ , com ou sem comorbidades, sem sucesso no tratamento clínico longitudinal, por no mínimo dois anos e que tenham seguido protocolos clínicos ou para aqueles com  $\text{IMC} > 35\text{kg/m}^2$  portadores de comorbidades, tais como alto risco cardiovascular, diabetes mellitus, apneia do sono e doenças articulares degenerativas (Portaria nº 424, de 19 de março de 2013).

Atualmente, dentre as técnicas cirúrgicas, a derivação gástrica em Y de Roux (DGYR) é considerada padrão-ouro (MIRAS & le ROUX, 2010), representando 46,6% do total de procedimentos realizados no mundo (BUCHWALD & OIEN, 2013). Este procedimento consiste na restrição do estômago para adaptação a um volume ao redor de 30 a 50 mL (FANDIÑO et al., 2004). A gastroplastia está associada a uma derivação gastrojejunal com anastomose em Y-de-Roux com comprimento das alças bileopancreática e alimentar com variação de 10 a 100 cm a partir do ângulo

de Treitz e de 75 a 150 cm, respectivamente (ORCI; CHILCOTT; HUBER, 2011). Assim, o procedimento cirúrgico promove modificações na anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal, levando a alterações no processo de absorção e na quantidade de alimentos ingeridos (BAL et al., 2012).

A compreensão dos mecanismos relacionados ao gasto energético é uma ferramenta importante para o tratamento da obesidade, uma vez que a TMR é responsável por um grande percentual do gasto calórico diário (CAREY; PLIEGO; RAYMOND, 2006). Estudos mostram que a perda de peso após a cirurgia bariátrica está associada com a redução do GED, o qual pode limitar a perda de peso dos pacientes em longo prazo (CARRASCO et al., 2007).

Os efeitos da DGYR no peso corporal já estão bem esclarecidos na literatura científica, porém são escassas as pesquisas sobre as alterações na MCM e MG associada à TMR após a cirurgia (CAREY et al., 2006). Além disso, não há consenso nos estudos longitudinais sobre a influência das variáveis de composição corporal no aumento ou diminuição do gasto energético dos indivíduos pré e pós DGYR.

#### **1.4 Genes**

Estudos apresentam a obesidade como uma doença de origem multifatorial com implicações genéticas (BURGIO; LOPOMO; MIGLIORE, 2014). Segundo Loos (2012), mais de 80 estudos com genoma foram realizados até o momento, identificando mais de 300 loci cromossômicos relatados na participação do controle de peso corporal e regulação do metabolismo energético. Dentre estes, destacam-se os genes beta-3-adrenoreceptor (*ADRB3*), proteínas desacopladoras (*UCPs*), pirilipina1 (*PLIN1*) e receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama (*PPARG2*).



### 1.4.1 Beta-3-adrenoreceptor (*ADRB3*)

As catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) estimulam a lipólise pela ativação dos receptores adrenérgicos, principalmente no tecido adiposo (SCHMIDT et al., 2014). Dessa maneira, o sistema adrenérgico possui um papel fundamental na regulação do balanço energético e controle do peso corporal (MASUO & LAMBERT, 2011).

De acordo com recentes pesquisas o *ADRB3* localizado no cromossomo 8 humano região 8p12 expresso especificamente no tecido adiposo, é considerado o principal receptor envolvido na termogênese e mobilização de lipídio no tecido adiposo (KUROKAWA et al., 2008; SALIBA et al., 2014).

O *ADRB3* pode estar relacionado com a dificuldade de perder peso em indivíduos com obesidade, uma vez que a diminuição de sua função no tecido adiposo branco (TAB) ocasiona menor taxa de lipólise o que desencadeia uma maior retenção de lipídios nos adipócitos (MASUO & LAMBERT, 2011). Há evidências que a variação nesse gene pode predispor indivíduos à obesidade abdominal, resistência à insulina e ao diabetes melitus tipo 2 (KOUMANIS et al., 2002).

### 1.4.2 Proteínas desacopladoras (*UCPs*)

As proteínas desacopladoras 1 (*UCP1*), 2 (*UCP2*) e 3 (*UCP3*) são membros da família de proteínas localizadas na membrana interna das mitocôndrias e participam no gasto energético, termogênese, regulação dos ácidos graxos livres e diminuição das espécies reativas de oxigênio (BRONDANI et al., 2014).

A *UCP1* localizada no cromossomo 4 humano região 4q28-q31 expressa principalmente no tecido adiposo marrom (TAM) desempenha papel importante não

somente na regulação térmica, mas no balanço energético e controle de peso corporal (KLAUS et al., 2004). No TAB apresenta função semelhante, contribuindo na oxidação, metabolismo lipídico e capacidade de redução de peso, portanto a expressão elevada do gene *UCP1* pode prevenir o desenvolvimento da obesidade (KLAUS et al., 2012).

Por outro lado, a *UCP2* identificada no cromossomo 11 humano região 11q13 pode ser encontrada em diferentes tecidos, TAB, TAM, músculo esquelético, rim, pâncreas e células do sistema imune (MINGRONE et al., 2003; DIANO & HORVATH, 2012). Já a *UCP3* localizada no cromossomo 11 humano região 11q.13.4 é expressa principalmente no músculo esquelético. Porém, tanto a *UCP2* como a *UCP3* estão envolvidas na regulação do metabolismo energético, no controle do peso corporal e de acordo com pesquisas recentes sugerem função importante na modulação do uso de lipídio e glicose como substratos. Desse modo, as *UCPs* representam novas estratégias no combate a obesidade e doenças associadas (DIANO & HORVATH, 2012; TODA & DIANO, 2014).

#### **1.4.3 Pirilipina 1 (*PLIN1*)**

As pirilipinas são proteínas localizadas na superfície dos adipócitos, sendo identificadas como as proteínas mais abundantes em torno desses (SMITH & ORDOVÁS, 2012), desempenhando um papel chave no armazenamento de lipídios, protegendo o núcleo lipídico da ocorrência de lipases e dessa maneira facilitando a formação de gotículas de gordura (RUIZ et al., 2011).

A pirilipina 1 é codificada pelo gene *PLIN1* localizado no cromossomo 15 humano região 15q26 (SMITH & ORDOVÁS, 2012). Pesquisas em humanos

encontraram expressão elevada desse gene em indivíduos com obesidade (KERN et al., 2004), sendo associada a comorbidades relacionadas a obesidade, como a síndrome metabólica (DERAM et al., 2008).

#### **1.4.4 Receptor ativado por proliferadores de peroxissomas tipo gama (*PPARG2*)**

Os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) são fatores de transcrição pertencentes à família de receptores nucleares responsáveis pela regulação de vários processos biológicos, no qual três isoformas derivadas a partir do mesmo gene têm sido identificadas e estudadas com maior frequência: *PPARG1*, *PPARG2* e *PPARG3* (MONSALVE et al., 2013). O *PPARG1* é expresso em uma ampla variedade de tecidos, o *PPARG3* é expresso no intestino grosso, macrófagos e TAB, por sua vez *PPARG2* tem expressão restrita no tecido adiposo (TAVARES; HIRATA; HIRATA, 2007; MONSALVE et al., 2013).

O gene *PPARG2* localizado no cromossomo 3 humano região 3p25 participa na regulação do metabolismo lipídico, proliferação, diferenciação dos adipócitos e sensibilidade à insulina (HUANG; ZHAO; ZHAO, 2011). A expressão do gene *PPARG2* é aumentada no tecido adiposo de indivíduos com obesidade comparados a eutróficos, sendo reduzida durante a perda de peso (SWARBRICK et al., 2001), além disso, é considerado um gene candidato para distúrbios relacionados ao metabolismo lipídico (HUANG; ZHAO; ZHAO, 2011).

*Objetivos*

## 2 OBJETIVOS

Verificar a expressão dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2*, em tecido adiposo subcutâneo abdominal e associar com medidas da taxa metabólica de repouso em indivíduos obesos grau III antes e após cirurgia bariátrica.

### 2.1 Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar a antropometria, composição corporal e taxa metabólica de repouso em indivíduos com obesidade grau III antes e após cirurgia bariátrica;
- ✓ Comparar a taxa metabólica de repouso antes e após cirurgia bariátrica com o grupo controle;
- ✓ Comparar a expressão dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1* e *PPARG2* de mulheres obesas com o grupo controle;
- ✓ Determinar se os genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1* e *PPARG2* possuem relação com a taxa metabólica de repouso;
- ✓ Avaliar a influência dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1* e *PPARG2* no percentual de perda de peso.

# *Casuística e Métodos*

### **3 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

#### **3.1 Casuística**

Foram selecionados 23 indivíduos, distribuídos em dois grupos. Grupo – 1 Cirurgia Bariátrica (G1) foi composto por 13 indivíduos do sexo feminino com obesidade grau III de população miscigenada (PENA et al., 2011), idade entre 18 e 60 anos, candidatos à cirurgia bariátrica de acordo com critérios estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica. Grupo 2 - Controle (G2) composto por 10 indivíduos eutróficos com IMC entre 18,5kg/m<sup>2</sup> a 24,9kg/m<sup>2</sup> (OMS, 2004), provenientes do Hospital Estadual que por indicação médica realizaram procedimento cirúrgico de hérnia umbilical (incisional ou epigástrica) ou colelitíase sem colecistite aguda.

Os participantes do G1 receberam dietas de baixo valor energético e não realizaram exercícios físicos um dia antes da coleta para garantir a padronização dos dados. Os participantes do estudo foram esclarecidos a respeito do protocolo da pesquisa, sendo incluídos somente os de acordo com a sua realização. A pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP-USP (CAAE: 18973913.0.0000.5440), (APÊNDICE A,B,C).

#### **3.2 Critérios de Inclusão**

Para o G1 participaram mulheres com indicação de cirurgia bariátrica pela técnica de derivação gástrica em Y de Roux, de acordo com o protocolo do Centro

de Cirurgia Bariátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, seguindo os critérios estabelecidos pela Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica. Para o G2 foram selecionadas mulheres com classificação nutricional de eutrofia, de acordo com o índice de massa corporal (OMS, 2004).

### **3.3 Critérios de Exclusão**

Foram excluídos do estudo os pacientes que apresentaram modificação na técnica cirúrgica padrão, perda de seguimento com equipe, gestantes, doenças da tireoide, distúrbios psiquiátricos e câncer.

### **3.4 Delineamento do Estudo**

Trata-se de um estudo de caráter longitudinal, a coleta de dados aconteceu em uma etapa no G2 e em duas etapas no G1, sendo uma antecedente ao procedimento cirúrgico e outra após seis meses. A primeira etapa ocorreu um dia antes do procedimento cirúrgico. Foi realizada avaliação nutricional, incluindo medidas de peso, estatura, questionário de hábitos de vida (antecedentes pessoais e histórico familiar de doenças crônicas), análise da composição corporal e taxa metabólica de repouso (Figura 1). Todas as avaliações foram realizadas na unidade metabólica do hospital.

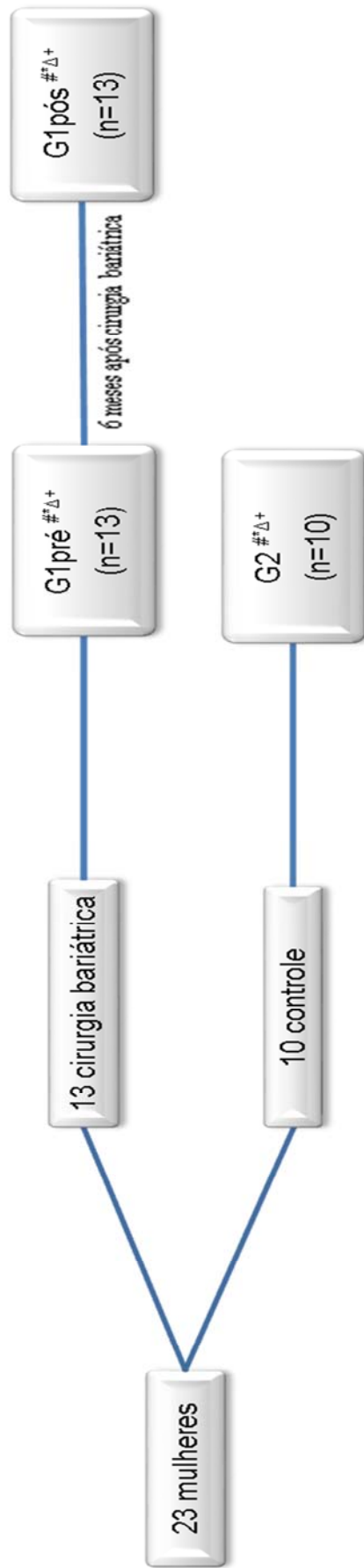
Durante a cirurgia bariátrica foram coletados 2g de tecido adiposo subcutâneo abdominal acima da cicatriz umbilical do lado superior direito para posterior análise



da expressão gênica, sendo importante ressaltar que todo procedimento cirúrgico e coleta de tecido foram realizados pelo médico cirurgião.

A segunda etapa do presente estudo ocorreu após seis meses da cirurgia bariátrica, na qual foram realizados todos os procedimentos descritos anteriormente na etapa 1, sendo que a coleta do tecido adiposo foi realizada por meio de biópsia na mesma região do primeiro procedimento e pela mesma equipe médica.

Para G2 todas as avaliações foram efetuadas em único momento. A coleta do tecido adiposo subcutâneo abdominal foi realizada durante procedimento cirúrgico de hérnia umbilical (incisional ou epigástrica) ou colelitíase sem colecistite aguda pela mesma equipe médica do G1. Todos os procedimentos foram realizados no Hospital Estadual da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.



**Avaliações realizadas:**

# Calorimetria indireta

\* Antropometria e Composição corporal

Δ Coleta de tecido adiposo

+ Análise da expressão gênica

**Figura 1.** Delineamento Experimental do Estudo. G1- Cirurgia Bariátrica, G2- Controle.

### 3.5 Avaliação Nutricional

#### 3.5.1 Antropometria

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

Os pacientes foram pesados em balança digital da marca Filizola<sup>®</sup> do tipo plataforma, com capacidade para 300 kg e precisão de 0,2 kg. Para medida da estatura foi utilizada haste vertical com graduação de 0,5 cm. O IMC obtido a partir da fórmula:  $IMC = P/A^2$ , onde P é o peso em quilogramas e A é a estatura em metros. A classificação da obesidade foi realizada com adoção dos critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2004).

A CA foi medida passando-se uma fita métrica inextensível com graduação de 0,1 mm na maior circunferência em torno da cicatriz umbilical. Valores de cintura  $\geq 80$  cm para mulheres foram considerados alterados conforme critérios propostos pela Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (Diretrizes Brasileiras de Obesidade, 2009).

A perda de peso em valores absolutos foi calculada por meio da diferença (em quilos) entre o peso do período pré operatório e peso após 6 meses de cirurgia bariátrica. O percentual de perda de peso corresponde à porcentagem (%) de peso perdido em relação ao peso pré-operatório. A perda de peso (kg e %) foi calculada como exposto no Quadro 1.

**Quadro 1.** Cálculo para perda de peso em valores absolutos e porcentagem de mulheres com obesidade.

Perda de peso em (kg)= peso pré operatório (kg) – peso atual (kg)

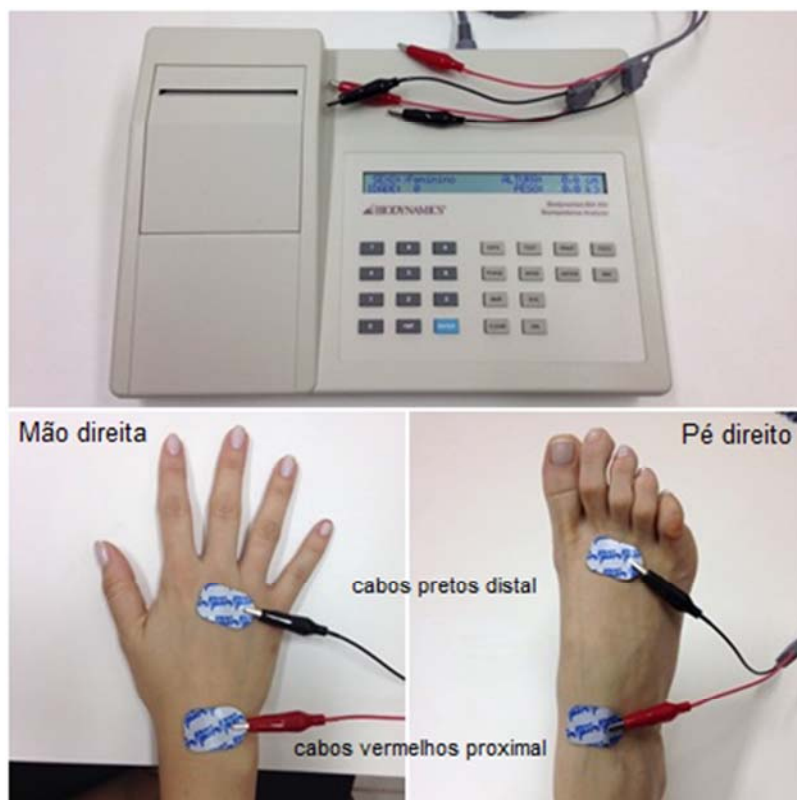
%PP= perda de peso (kg) x 100 / peso pré-operatório (kg)

Kg= quilogramas; %PP= percentual de perda de peso.

### 3.5.2 Avaliação da composição corporal

Para análise da composição corporal foi utilizado aparelho de Bioimpedância Elétrica modelo Quantum BIA 450 Q – RJL System. O exame foi realizado de acordo com as seguintes recomendações: após seis horas de jejum, com a bexiga urinária vazia, paciente deitado com as pernas afastadas e braços em paralelo afastados do corpo.

De acordo com recomendações do fabricante foram colocados quatro eletrodos adesivos na mão e no pé direito, como representado na Figura 2: um na superfície dorsal do punho direito entre os ossos ulnar e rádio e outro no terceiro metacarpo, um na superfície anterior do tornozelo direito entre as porções proeminentes dos ossos e outro na superfície dorsal do terceiro metatarso. Uma corrente elétrica de baixa amplitude (entre 500 a 800 A) e frequência de 50 Khz foi aplicada nos eletrodos distais da mão e do pé.



**Figura 2:** Fotografia do aparelho de Bioimpedância Elétrica e representação dos eletrodos em uma avaliação.

Os valores de resistência e reactância foram colocados em fórmulas de composição corporal específicas para a população do presente estudo, obtendo-se assim, os valores de massa corporal magra (MCM) (JAKICIC; WING; LANG, 1998). Para obtenção dos valores de massa gorda (MG), foi subtraída a quantidade de MCM (kg) do peso total (kg). A fórmula para o cálculo da MCM é apresentada no Quadro 2.

**Quadro 2.** Equação de JAKICIC (1998) para correção da MCM de mulheres obesas.

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

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

### 3.6 Avaliação da Taxa Metabólica de Repouso

A TMR foi determinada pela medida do oxigênio consumido ( $O_2$ ) e gás carbônico produzido ( $CO_2$ ), utilizando o aparelho *QUARK-RMR* (*COSMED*, Roma, Itália). O aparelho foi automaticamente calibrado antes de todas as avaliações com concentrações de gases conhecidas, conforme especificações do próprio fabricante. Os indivíduos foram orientados a permanecerem em jejum de seis horas, não realizarem qualquer prática de exercício físico, não ingerir café ou chá preto 24 horas antes da avaliação.

A *Canopy*, uma máscara facial de baixo fluxo de 0 até 50 l/min (*COSMED*, *Pulmonary Function Equipment*, Itália) foi ajustada ao paciente, conforme apresentado na Figura 3. Durante toda avaliação, as mulheres permaneceram acordadas, deitadas em decúbito dorsal em sala sob temperatura ambiente controlada entre 21 e 24°C, com baixa luminosidade e sem ruídos. Todas as avaliações ocorreram no período da manhã das 8:00 às 10:00 horas.



**Figura 3:** Avaliação da taxa metabólica em repouso de pacientes com obesidade grau III.

O consumo de oxigênio ( $VO_2$ ) e a produção de gás carbônico ( $VCO_2$ ) foram medidos durante 30 minutos, sendo que os dez primeiros minutos foram descartados até o indivíduo atingir um estado estável (WEIJS & VANSANT, 2010). O modelo matemático para estimativa da taxa metabólica de repouso está apresentado no Quadro 3.

**Quadro 3.** Equação de Weir (1949) para estimativa da taxa metabólica de repouso.

Taxa metabólica de repouso (kcal/dia):  $3,941 V_{O_2} (l/min) + 1,106 V_{CO_2} (l/min)$

$V_{O_2}$  = volume de oxigênio;  $V_{CO_2}$  = volume de gás carbônico.

### 3.7 Coleta de Tecido Adiposo

Durante o ato cirúrgico foram extraídas amostras de tecido adiposo, aproximadamente 2g na linha média, acima da cicatriz umbilical do lado superior direito. As amostras foram armazenadas em gelo e estocadas a  $-80^{\circ}C$ .

O referido procedimento foi realizado em ambos os grupos estudados, durante a cirurgia bariátrica para G1, sendo que este tecido já é abordado durante o ato operatório e no caso do G2 por meio de uma incisão de 1 cm na linha média supra umbilical.

A coleta da segunda etapa foi realizada apenas para o G1 (submetidos à cirurgia bariátrica), após seis meses do primeiro procedimento, no qual foi realizada pequena incisão no mesmo local da cicatriz prévia. Desse modo, o paciente foi submetido à biópsia para retirada do tecido adiposo subcutâneo, sob efeito de anestesia local.

### 3.8 Análises da Expressão Gênica

#### 3.8.1 Extração de RNA

O RNA foi extraído a partir de 2g da amostra do tecido adiposo subcutâneo de pacientes com obesidade grau III submetidos à cirurgia bariátrica (G1) e indivíduos eutróficos (G2), utilizando o método de extração fenolclorofórmio descrito por Chomczynski & Sacchi (1987) a partir de 1,0 mL de Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). O procedimento para extração de RNA é descrito a seguir:

Para amostras de tecido adiposo, centrifugar à 12.000g por 10 minutos antes de seguir o protocolo. Recuperar a fase intermediária. Descartar o pellet e o sobrenadante oleoso.

1. Descongelar a amostra em Trizol, mantendo no gelo
2. Adicionar 250uL de clorofórmio
3. Adicionar 10uL de glicogênio (20ng/uL)
4. Agitar o tubo manualmente por 15 segundos
5. Incubar por 5 minutos no gelo
6. Centrifugar à 12.000g por 15 minutos à 4°C
7. Transferir o sobrenadante para um novo tubo
8. Adicional 250uL de clorofórmio
9. Agitar o tubo manualmente por 15 segundos e incubar por 5 minutos no gelo
10. Centrifugar à 12.000g por 15 minutos à 4°C
11. Transferir o sobrenadante para um novo tubo
12. Adicionar o mesmo volume de isopropanol 100% (gelado)
13. Agitar manualmente por inversão
14. Centrifugar à 12.000g por 15 minutos à 4°C
15. Descartar cuidadosamente o sobrenadante



16. Ressuspender o pellet em 1mL de etanol 70%
17. Centrifugar à 12.000g por 15 minutos à 4°C
18. Ressuspender o pellet em 1mL de etanol 70%
19. Centrifugar à 12.000g por 15 minutos à 4°C
20. Secar o pellet
21. Adicionar 20uL de água RNase free

A quantificação do RNA foi realizada por meio do espectrofotômetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific) nos comprimentos de onda de 260/280 e 230nm, visando avaliação do grau de pureza de cada amostra. As amostras de RNA foram armazenadas em freezer -80°C, garantindo estabilidade e preservação do RNA.

### **3.8.2 Transcrição reversa por reação em cadeia da polimerase – RT- qPCR (Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction) – Síntese de cDNA**

O DNA complementar (cDNA) foi sintetizado em uma reação de 50µL contendo 100ng de RNA total utilizando kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription® (*Life Technologies*), conforme instruções do fabricante.

### **3.8.3 Análise de expressão gênica – PCR em tempo real (qPCR)**

A análise da expressão gênica foi realizada em triplicata por qPCR utilizando o aparelho 7500 Fast real PCR System (Applied Biosystems).

De acordo com cada curva padrão, o número de cópias dos transcritos foi obtido. A qPCR foi realizada para quantificar a expressão relativa dos genes *ADRB3*, *UCPs*, *PLIN1*, *PPARG2*, utilizando as sondas de hidrólise apresentadas no quadro 4:

<b>Quadro 4.</b> Sondas de hidrólise para os genes alvos.	
<b>GENE</b>	<b>SONDA</b>
<i>ADRB3</i>	Hs00609046_m1
<i>UCP1</i>	Hs00222453_m1
<i>UCP2</i>	Hs01075227_m1
<i>UCP3</i>	Hs01106052_m1
<i>PLIN1</i>	Hs00160173_m1
<i>PPARG2</i>	Hs01115513_m1

TaqMan MGB 6-FAM fluorogênicas, de acordo com instruções do fabricante. As reações foram realizadas em placas de 96 wells (Applied Biosystems).

A quantificação relativa utilizando como calibrador o grupo G2 foi efetuada por meio do software *Symphony<sup>tm</sup>* recomendado pelo próprio fabricante, no qual realizou-se todos os cálculos de diferença de expressão baseado na metodologia de  $2\Delta\Delta Ct$ .

### 3.8.4 Controle endógeno

Para normalizar a expressão dos mRNAs dos genes estudados para diferenças na quantidade e qualidade de RNA e eficiência da reação de transcrição reversa entre as amostras, foram avaliados 2 genes de referência (GAPDH e  $\beta$ -actina) frequentemente utilizados em estudos para determinar o melhor normalizador para as amostras analisadas. Os genes de referência foram amplificados e detectados por sonda TaqMan MGB 6-FAM fluorogênicas (Applied Biosystems), de acordo com instruções do fabricante.

<b>Quadro 5.</b> Sondas de hidrólise para os genes de referência.	
<b>GENE</b>	<b>SONDA</b>
GAPDH	Hs99999905_m1
$\beta$ -actina	Hs99999903_m1

### 3.9 Análise Estatística

Após atestada a normalidade da distribuição dos dados pelo teste de *Shapiro-Wilk*, a estatística descritiva foi composta por valores de média e desvio-padrão (DP). Em seguida foi utilizada a análise de variância (ANOVA) com post hoc de Tukey para verificar diferenças entre os grupos. O teste t de Student para amostras pareadas foi utilizado para comparações entre os momentos pré e pós cirurgia bariátrica, em seguida análise de regressão linear para determinar a magnitude da influência da variável MCM e para verificar a associação entre a MCM e TMR foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson. Para as variáveis não paramétricas foram utilizados o teste de Wilcoxon e regressão linear múltipla.

A significância estatística (p-valor) foi estabelecida em  $p < 0,05$ , sendo todas as análises realizadas no software Statistical Package for Social Science (SPSS versão 17.0 [Inc. Chicago. IL]).

*Resultados*

## 4 RESULTADOS

Participaram do presente estudo 23 indivíduos, sendo 13 mulheres com obesidade, com média de idade de  $32,7 \pm 9,1$  anos que foram submetidas ao procedimento cirúrgico pela derivação gástrica em Y de Roux e 10 mulheres eutróficas com média de idade de  $34,0 \pm 11,0$  anos.

Na tabela 1 estão descritas as variáveis de antropometria, composição corporal e TMR das pacientes antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica e das mulheres eutróficas. Foram observadas diferenças significantes nas variáveis peso, IMC, CA, MCM, MG,  $VO_2$ ,  $VCO_2$ , TMR e QR entre os grupos, sendo que apenas as variáveis estatura e idade não apresentaram diferenças.

No grupo G1 das mulheres candidatas a cirurgia bariátrica 84,6% foram classificadas com obesidade grau III, após 6 meses da DGYR das 13 pacientes, apenas 23% apresentaram obesidade grau III, 23% obesidade grau II, 38,5% obesidade grau I, 7,7% sobrepeso e 7,7% da amostra atingiu a eutrofia.

Tabela 1. Antropometria, composição corporal e taxa metabólica de repouso de pacientes com obesidade grau III antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica (G1) e eutróficas (G2).

	G1pré-op (n=13)	G1pós-op (n=13)	G2 (n=10)
<b>Idade</b>	32,7±9,1	33,2±9,1	34,0±11,0
<b>Peso (kg)</b>	119,3±15,0	92,5±14,1 <sup>a,c</sup>	56,7±7,4 <sup>a,b</sup>
<b>Estatura (cm)</b>		164,0±7,4	161,2±6,8
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	44,5±6,4	34,5±5,7 <sup>a,c</sup>	21,7±2,1 <sup>a,b</sup>
<b>CA (cm)</b>	125,5±14,3	109,0±14,4 <sup>a,c</sup>	78,6±8,7 <sup>a,b</sup>
<b>MCM (kg)</b>	54,7±4,3	50,0±4,7 <sup>a,c</sup>	39,5±6,3 <sup>a,b</sup>
<b>%MCM</b>	46,2±3,3	54,6±4,9 <sup>a,c</sup>	69,4±3,5 <sup>a,b</sup>
<b>MG (kg)</b>	64,6±11,4	42,5±10,3 <sup>a,c</sup>	17,4±2,5 <sup>a,b</sup>
<b>%MG</b>	53,8±3,3	45,4±4,9 <sup>a,c</sup>	30,5±3,5 <sup>a,b</sup>
<b>VO<sub>2</sub> (l/min)</b>	0,31±0,04	0,27±0,03	0,20±0,04 <sup>a,b</sup>
<b>VCO<sub>2</sub> (l/min)</b>	0,21±0,02	0,18±0,02 <sup>a,c</sup>	0,16±0,02 <sup>a,b</sup>
<b>TMR (kcal/dia)</b>	2.094±275	1.863±210 <sup>a,c</sup>	1.427±257 <sup>a,b</sup>
<b>QR</b>	0,70±0,05	0,69±0,05	0,77±0,09 <sup>a,b</sup>

Op: operatório, IMC: índice de massa corporal, CA: circunferência abdominal, MCM: massa corporal magra, MG: massa gorda, VO<sub>2</sub>: volume de oxigênio, VCO<sub>2</sub>: volume de dióxido de carbono, TMR: taxa metabólica de repouso, QR: quociente respiratório, <sup>a</sup>p< 0,05 em relação ao G1pré-op, <sup>b</sup>p<0,05 em relação ao G1pós-op e <sup>c</sup>p<0,05 em relação ao controle.

Na tabela 2 são apresentadas as comparações entre TMR antes e após seis meses do tratamento cirúrgico em valores absolutos e ajustados por peso corporal e MCM. Houve uma diminuição dos valores absolutos da TMR ( $p=0,01$ ), porém quando ajustada pelo peso observou-se um aumento significativo ( $p=0,01$ ). A quantidade de caloria por quilo de MCM se manteve comparando os momentos antes e após 6 meses do procedimento ( $p=0,36$ ).

Tabela 2. Taxa metabólica de repouso em termos absolutos e ajustados por peso e massa corporal magra antes e após 6 meses da cirurgia bariátrica.

	G1 pré-op (n=13)	G1 pós-op (n=13)	<i>P</i>
<b>TMR abs (kcal)</b>	2.094±275	1.863±210	<b>0,01</b>
<b>TMR/Peso (kcal/kg)</b>	17,7±2,1	20,4±2,1	<b>0,01</b>
<b>TMR/MCM (kcal/kg)</b>	38,3±4,1	37,3±3,2	0,36

Op: operatório, MCM: massa corporal magra, TMR: taxa metabólica de repouso, Abs: Absoluta.

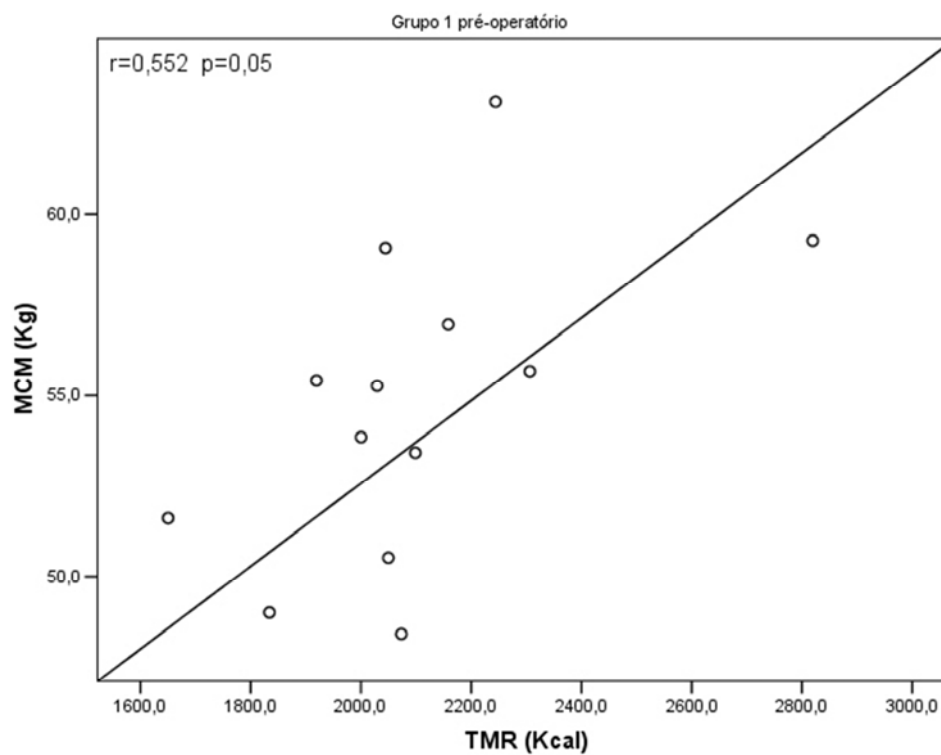
A tabela 3 mostra a análise de regressão linear para a variável dependente TMR/kg no grupo de mulheres obesas. A MCM (kg) no momento pós operatório explica uma variação 29% da TMR, sendo que exerce influência estatisticamente significativa na TMR/kg ( $p=0,03$ ).

Tabela 3. Modelo de análise de regressão linear para variável dependente taxa metabólica de repouso.

	Variável independente	$\beta$	$r^2$	<i>p</i>	IC95%
<b>G1 pré</b>	MCM(kg)	-0,370	0,05	0,21	(-0,48;0,12)
<b>G1 pós</b>		-0,592	0,29	<b>0,03</b>	(-0,50;-0,02)

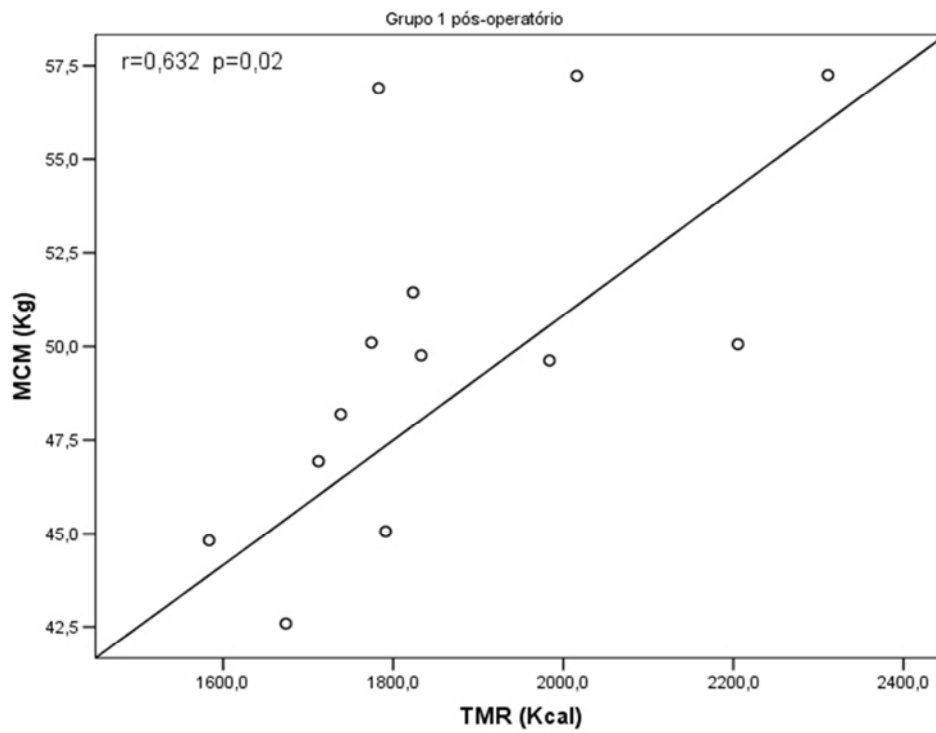
MCM: massa corporal magra,  $r^2$ : coeficiente de determinação, IC: intervalo de confiança,  $p<0,05$ .

Nas figuras 4 e 5 estão representadas as correlações entre a TMR e MCM no grupo G1, demonstrando correlação positiva entre as duas variáveis nos momentos pré ( $r=0,552$ ;  $p= 0,05$ ) e pós operatório ( $r=0,632$ ;  $p= 0,02$ ).



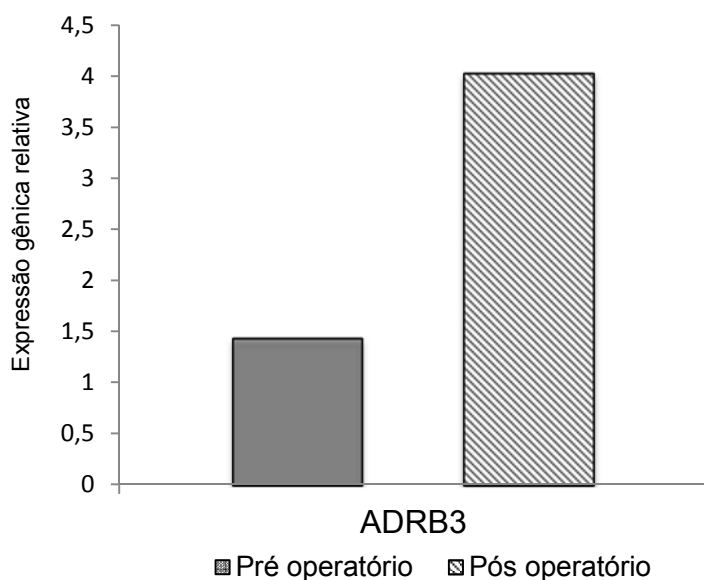
**Figura 4.** Correlação entre TMR e MCM em pacientes com obesidade grau III antes da cirurgia bariátrica.



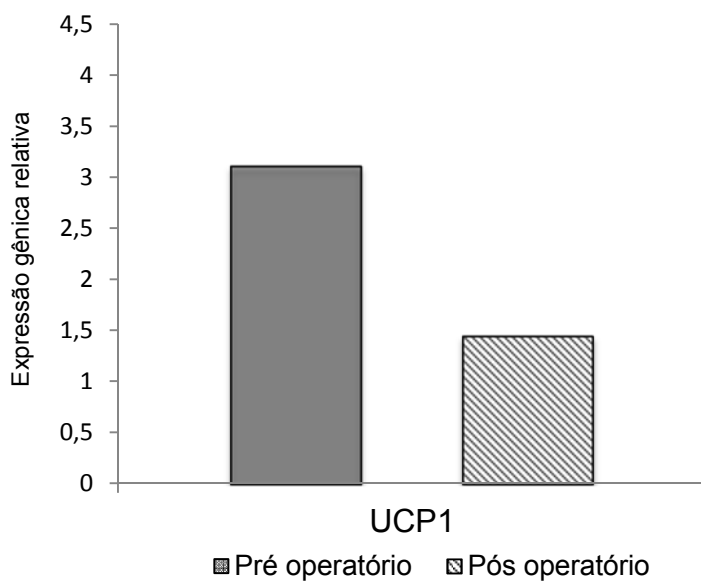


**Figura 5.** Correlação entre TMR e MCM em pacientes após 6 meses de cirurgia bariátrica.

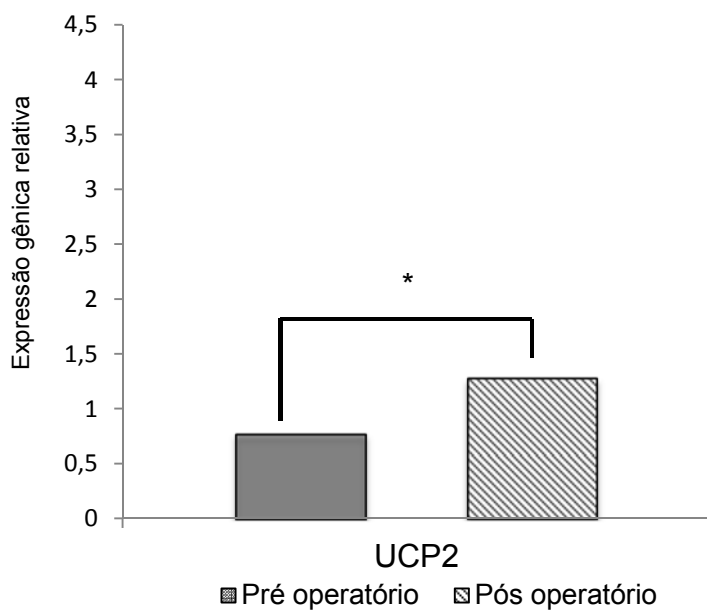
As figuras de 6 a 11 mostram a expressão dos genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* antes e após a cirurgia bariátrica. Apenas a expressão do gene *UCP2* apresentou diferença entre os dois momentos ( $p=0,01$ ).



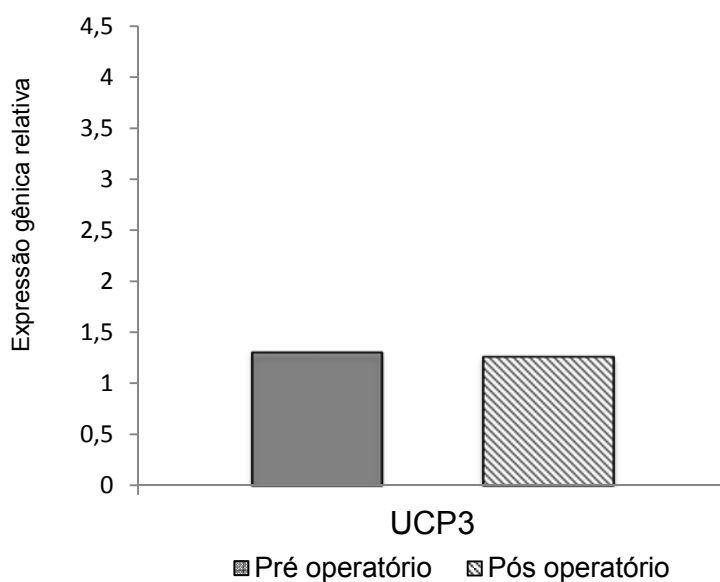
**Figura 6.** Expressão gênica relativa do gene *ADRB3* em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica ( $p=0,92$ ).



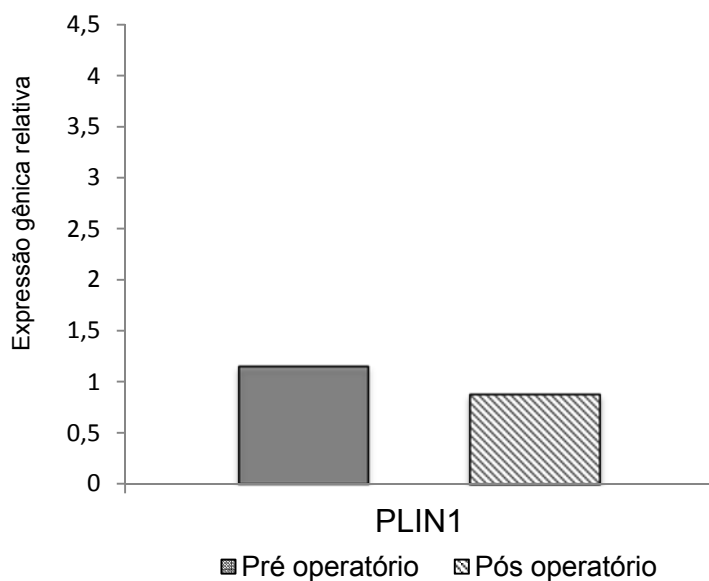
**Figura 7.** Expressão gênica relativa do gene *UCP1* em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica ( $p=0,25$ ).



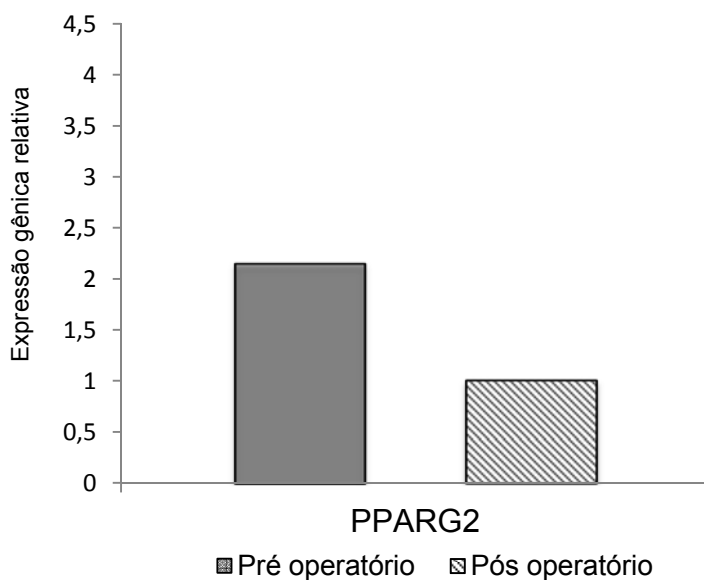
**Figura 8.** Expressão gênica relativa do gene *UCP2* em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica (\* $p=0,01$ ).



**Figura 9.** Expressão gênica relativa do gene *UCP3* em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica ( $p=0,65$ ).



**Figura 10.** Expressão gênica relativa do gene *PLIN1* em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica ( $p=0,42$ ).



**Figura 11.** Expressão gênica relativa do gene *PPARG2* em mulheres com obesidade antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica ( $p=0,65$ ).

Na tabela 4 está apresentada a análise de regressão linear múltipla para variável dependente TMR/kg de peso com os genes avaliados nos períodos pré e pós operatório. Houve influência dos genes *UCP2* ( $p=0,01$ ) e *PLIN1* ( $p=0,04$ ) na TMR/kg de peso no período pré operatório.

Tabela 4. Análise de regressão linear múltipla mostrando a contribuição da expressão dos genes avaliados na TMR por kg de peso e ajustado por idade.

Genes	Pré operatório				Pós operatório			
	$\beta$	$r^2$	$p$	IC95%	$\beta$	$r^2$	$p$	IC95%
<b><i>ADRB3</i></b>	0,109	0,111	0,69	(-0,66;0,95)	0,179	-0,143	0,61	(-0,18;0,29)
<b><i>UCP1</i></b>	-0,355	0,244	0,19	(-0,33;0,07)	0,341	-0,035	0,27	(-0,32;1,03)
<b><i>UCP2</i></b>	-0,594	0,517	<b>0,01</b>	(-3,87;-0,54)	-0,428	0,045	0,16	(-1,89;0,36)
<b><i>UCP3</i></b>	0,272	0,182	0,33	(-0,34;0,93)	0,411	0,029	0,17	(-0,25;1,18)
<b><i>PLIN1</i></b>	-0,520	0,420	<b>0,04</b>	(-2,17;-0,06)	-0,172	-0,04	0,90	(-2,90;2,60)
<b><i>PPARG2</i></b>	-0,338	0,233	0,21	(-0,46;0,11)	0,140	-0,152	0,67	(-2,13;3,44)

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

Ao analisar a contribuição da expressão dos genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1* e *PPARG2* na variação ponderal, observou-se que a expressão dos genes *UCP2* e *PLIN1* no período pré operatório influenciou o percentual de perda de peso durante o estudo. A tabela 5 mostra que a %PP é influenciada pelo gene *UCP2* no período pré operatório, mesmo quando ajustados por idade (modelo 1) e por IMC (modelo 2).

Tabela 5. Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão do gene *UCP2* na perda de peso (%).

	$\beta$	$r^2$	$p$	IC95%
Modelo 1	-0,633	0,317	<b>0,02</b>	(-6,58;-0,56)
Modelo 2	0,369	-0,574	<b>0,03</b>	(-6,23;-0,25)

$r^2$ : coeficiente de determinação, IC: intervalo de confiança, Modelo 1: regressão ajustada por idade, Modelo 2: regressão ajustada por IMC,  $p < 0,05$ .

A tabela 6 mostra a contribuição independente do gene *PLIN1* no porcentual de perda de peso para os modelos 1 e modelo 2.

Tabela 6. Regressão linear múltipla mostrando a contribuição independente da expressão do gene *PLIN1* na perda de peso (%).

	$\beta$	$r^2$	$p$	IC95%
Modelo 1	0,456	-0,717	<b>0,01</b>	(-3,89;-0,79)
Modelo 2	0,462	-0,655	<b>0,01</b>	(-3,77;-0,51)

$r^2$ : coeficiente de determinação, IC: intervalo de confiança, Modelo 1: regressão ajustada por idade, Modelo 2: regressão ajustada por IMC,  $p < 0,05$ .

*Discussão*

## 5 DISCUSSÃO

Pode-se observar, a partir dos resultados obtidos no presente estudo, significativa redução nas variáveis de peso, IMC e circunferência abdominal após 6 meses de cirurgia bariátrica. Porém, mesmo após esta redução os indicadores foram diferentes do grupo controle.

A cirurgia bariátrica é uma ferramenta efetiva para o tratamento da obesidade grau III, promove considerável perda de peso, redução das comorbidades e conseqüentemente melhora na qualidade de vida dos pacientes (BAVARESCO et al., 2010). Inicialmente acreditava-se que a perda de peso induzida pela cirurgia bariátrica era causada somente pela restrição da ingestão de alimentos e má absorção de nutrientes, entretanto, estudos revelam a participação do aumento da saciedade, alteração na palatabilidade, modificação no gosto dos alimentos e alteração do metabolismo dos ácidos biliares, assim todos esses processos favorecem a manutenção e perda de peso (THIVEL et al., 2013).

Estudo realizado por Berisha et al. (2011) mostrou redução média de 21% do IMC após a cirurgia bariátrica, valor próximo ao evidenciado em nosso estudo de 22,5%. Pedrosa et al. (2009) relatam redução gradativa do peso e IMC nos períodos pós operatórios de 6,12,18, e 24 meses em uma amostra de 205 pacientes e 6 meses após a cirurgia encontraram pacientes com obesidade grau III, II, I, sobrepeso e eutróficos dados esses semelhantes a nossos achados.

Diferentemente dos resultados da presente pesquisa, na qual apenas 23% dos pacientes apresentavam obesidade grau III após 6 meses da DGYR, Costa et al. (2010) em estudo prospectivo verificou uma prevalência 42,9% de mulheres com IMC acima de 40 kg/m<sup>2</sup>.



As pacientes deste estudo apresentaram perda de média de peso de 26,8 kg em 6 meses, equivalente a 22% em relação ao peso pré operatório. Esses dados corroboram aqueles obtidos por Berisha et al. (2011), que mostraram redução significativa de 22% do peso e diferentes aos encontrados por Novais et al. (2010) e Pedrosa et al. (2009) com perda de 26,9 % e 23,4%, respectivamente, enquanto que Nassif et al. (2009) mostraram redução de peso de 19,9% após 4 meses da cirurgia. Estudo publicado por Aarts et al. (2015) mostra que a perda de peso proporcionada pelo tratamento cirúrgico parece ter efeito nos familiares dos pacientes, uma vez que 66,2% destes também perderam peso.

As pacientes do presente estudo apresentaram redução média de 16,5 cm de CA após 6 meses da DGYR, porém não foi suficiente para atingirem o padrão recomendado pela Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica (Diretrizes Brasileiras de Obesidade, 2009). Em pesquisa realizada com 14.101 mulheres abrangendo todas as regiões brasileiras, constatou-se que 55,5% apresentaram CA elevada, no qual valores iguais ou superiores a 88 cm representa condição indicativa de risco muito elevado à saúde, foram encontrados em 29,8% das mulheres (PNDS, 2006). Silva et al. (2013) ao avaliar 98 obesos antes e após 6 meses de cirurgia bariátrica encontraram redução significativa de 23,3 cm na CA, dados semelhantes aos achados por Carrasco et al. (2007) em uma amostra de 31 pacientes que apresentaram redução de 28,6 cm após 6 meses da DGYR.

A obesidade abdominal é um fator de risco independente para doenças endócrinas, metabólicas e principalmente cardiovasculares, mesmo quando o IMC apresenta-se dentro dos limites da normalidade (VELOSO & SILVA, 2010). A circunferência abdominal tem sido amplamente utilizada na prática clínica como

indicador de adiposidade central, além de ser considerada critério diagnóstico para síndrome metabólica (MELLER et al., 2014).

A DGYR leva a perda média de 35 a 40% do peso corporal inicial em um prazo de 12 a 24 meses, porém além de uma redução de MG, cujo é o principal objetivo do procedimento, em paralelo, ocorre perda de MCM (HARTWIG et al., 2013). Encontramos modificações significantes na composição corporal das pacientes deste estudo, houve redução média de 4,7 kg de MCM e redução de MG de 22,1 kg após 6 meses da cirurgia.

A redução nos parâmetros de composição corporal são observados desde o primeiro mês pós operatório. Estudo conduzido por Hartwing et al. (2013) mostrou perda de 4,4 kg de MCM. Carey, Pliego & Raymond (2006) encontraram redução de MCM em valores absolutos nos períodos de 1 mês, 3 meses e 6 meses de 13,2 kg, sem diferença no período de 6 a 12 meses após a cirurgia. Em relação a %MCM, nosso estudo verificou aumento de 8,4%, enquanto Faria et al. (2012) avaliaram 46 pacientes pré e pós 6 meses de cirurgia e verificaram aumento de 12,3%.

Diversos estudos relatam a redução da MG em valores absolutos e percentuais após a cirurgia bariátrica, Carrasco et al. (2007) observaram redução de 26 kg em 6 meses, representando 10,4%, dados semelhantes ao nosso estudo e de Faria et al. (2012). Carey et al. (2006) verificaram uma redução ainda maior de MG de 26,4 kg após 6 meses e uma diminuição total de 16,4%, após 12 meses.

Tamboli et al. (2010) analisaram o gasto energético total em 29 pacientes durante os períodos pré e após 6 e 12 meses de cirurgia bariátrica, constatando redução significativa somente nos tempos pré e 6 meses,  $2.768 \pm 474$  kcal/dia para  $2.010 \pm 260$  kcal/dia, respectivamente. Ao analisar nossos dados os valores absolutos de TMR observa-se um declínio no momento pós operatório ( $2.094 \pm 275$  para

1.863±210 kcal/dia), corroborando com os dados encontrados de Cesar et al. (2008) que analisaram grupo de 21 mulheres antes e 3 meses após a DGYR e verificaram redução de 2.006±376 kcal/dia para 1.763±310 kcal/dia. Os pacientes com obesidade também possuem uma TMR absoluta maior comparada aos eutróficos, esse fato pode ser explicado devido a maior massa corporal dos obesos, sendo necessário maior gasto energético para manter suas principais funções (FARIA et al., 2012).

As variáveis respiratórias  $VO_2$  e  $VCO_2$  apresentaram diferenças entre os grupos G1 e G2, o quociente respiratório (QR) definido como a razão entre essas duas variáveis, utilizado para identificar o substrato energético (lipídio, proteína ou glicose) que está sendo oxidado pelo paciente no momento da avaliação, sofreu alteração de 0,70 para 0,69 no pós operatório, indicando oxidação predominante de gordura, nesses casos o valor de referência se encontra entre 0,65 e 0,70 (DIAS et al., 2010). Em outros estudos também é possível verificar a diminuição do QR com aumento da oxidação lipídica após a cirurgia bariátrica (CESAR et al., 2008; CARRASCO et al., 2007).

Ao comparar os valores de TMR, observou-se no presente estudo redução em valores absolutos, no entanto, quando esta foi ajustada por peso, os valores passaram de 17,7±2,1 no pré operatório para 20,4±2,1 calorias por quilogramas de peso ( $p=0,01$ ) após 6 meses da cirurgia. Ao contrário do encontrado na presente pesquisa, Cesar et al. (2008) não observou diferença significativa entre TMR ajustada por peso após 3 meses da cirurgia bariátrica. Já Faria et al. (2012) corroborando com nossos achados, encontrou diferença de 15,6±3,0 para 18,9±3,3 kcal/kg entre o pós operatório em um mesmo período de tempo, ainda constatou que para cada unidade de aumento de TMR ajustado por peso houve um aumento na

perda do excesso de peso de 3,15%, dessa maneira o aumento do gasto energético pode explicar o sucesso da perda de peso associada a DGYR.

Carey et al. (2006) analisaram a TMR ajustada pela MCM no pré e nos tempos pós operatórios de 1, 3 e 6 meses e não observaram mudanças significantes nesse parâmetro, semelhante ao que ocorreu em nosso estudo, na qual os valores se mantiveram inalterados, indicando que não há mudanças na TMR por quilograma de MCM com a perda de peso.

Nossos resultados mostraram correlação entre MCM e TMR ( $r=0,632$ ;  $p=0,02$ ) aos 6 meses após cirurgia bariátrica, mostrando que quanto maior a massa magra, maior o dispêndio energético em repouso. Fonseca & Duarte (2008) apontam que obesos possuem coeficientes de correlação mais elevados para esta variável do que indivíduos eutróficos ou baixo peso. Condizendo com estudos publicados, os quais descrevem a MCM como melhor preditor da TMR respondendo em até 85% da sua variação (FONSECA & DUARTE, 2008; CAREY, PLIEGO & RAYMOND, 2006), nosso trabalho evidenciou influência significativa da MCM, sendo responsável por 29% ( $p=0,01$ ) da variação sob a TMR.

Ao comparar a expressão gênica antes e após a cirurgia bariátrica, não foi observada diferença nos genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP3*, *PLIN1*, *PPARG2*. Porém, houve aumento na expressão do gene *UCP2* após seis meses da cirurgia bariátrica.

É importante salientar que não há estudos semelhantes na literatura especializada avaliando a expressão dos genes *ADRB3*, *UCP1*, *UCP2*, *UCP3*, *PLIN1*, *PPARG2* em tecido adiposo subcutâneo antes e após 6 meses da DGYR e suas possíveis contribuições e associações com a taxa metabólica de repouso e o percentual de perda de peso como visto no presente estudo.

Neste estudo, a expressão do gene *ADRB3*, verificado especificamente no tecido adiposo, passou de 1,43 para 4,02 no pós operatório, porém não houve diferença estatística. Uma vez que o *ADRB3* estimula a mobilização de lipídios no TAB e aumenta a termogênese no TAM, o aumento de sua expressão significa aumento de lipólise e menor retenção de lipídios nos adipócitos, colaborando para perda de peso após a cirurgia (MASUO & LAMBERT, 2011).

Com o objetivo de verificar as mudanças no gene *ADRB3* e suas possíveis consequências, estudos analisaram os polimorfismos presente nesse gene e sua relação com obesidade, síndrome metabólica e hipertensão. Kurokawa et al. (2008) em meta-análise realizada a partir de 97 estudos, envolvendo 44.833 indivíduos sugerem que o polimorfismo Trp64Arg do *ADRB3* é associado ao IMC na população asiática, mas não em europeus. Corroborando com esses achados, Mirrakhimov et al. (2011) encontraram associação entre componentes da síndrome metabólica (obesidade, circunferência abdominal e diminuição do nível de HDL) e o mesmo polimorfismo.

Os estudos da literatura são discordantes a respeito do polimorfismo *ADRB3* e sua contribuição para obesidade. Saliba et al. (2014) ao avaliar 109 mulheres brasileiras com obesidade que passaram por uma intervenção dietética durante sete semanas não encontraram diferença na perda de peso entre as mulheres portadoras e não portadoras deste polimorfismo. Em outro estudo, conduzido por Koumanis et al. (2002) comparando 126 candidatos à cirurgia bariátrica com 102 indivíduos controles não encontraram diferença na frequência do polimorfismo *ADRB3*. Porém, ao analisar a relação entre *ADRB3* e TMR em 141 mulheres obesas observou-se diferença na TMR, houve diminuição naquelas que apresentavam este polimorfismo (SIPILAINEN et al., 1997).

A *UCP1* possui papel importante na regulação térmica e balanço energético. Em nosso estudo observou-se expressão reduzida em relação ao pré operatório, porém não houve diferença estatística. Embora seus mecanismos de ação não estejam totalmente estabelecidos, sua função termogênica no TAM é relatada em alguns estudos (KNUDSEN et al., 2014; LIU et al., 2013). A família das proteínas desacopladoras auxiliam no combate a obesidade, devido a sua localização na membrana interna mitocondrial relacionada a produção de energia sob a forma de calor (KLAUS et al., 2012; DEPIERI et al., 2004). Em pesquisas realizadas com ratos observou-se que o aumento da expressão da *UCP1* tanto em TAB quanto em músculo esquelético conduziu ao aumento no gasto energético (KLAUS et al., 2005; STEFL et al., 1998).

A diminuição na expressão do gene *UCP1* aumenta a susceptibilidade a obesidade induzida por dieta em ratos (KONTANI et al., 2005), o mesmo ocorre com seres humanos que possuem o polimorfismo no referido gene, o qual contribui para o desenvolvimento da obesidade e diabetes mellitus tipo 2 (BRONDANI et al., 2012).

Neste estudo, houve um aumento da expressão do gene *UCP2* com diferença estatística entre os períodos estudados, fato importante uma vez que a *UCP2* está envolvida na regulação de mecanismos de homeostase corporal, incluindo a ingestão de alimentos, gasto energético, homeostase da glicose, além da secreção de insulina e glucagon no pâncreas (TODA & DIANO, 2014). O aumento da expressão do gene *UCP2* na presente pesquisa confirma os achados na literatura, a qual mostra que as proteínas desacopladoras produzem energia, desencadeando uma maior produção de calor e elevando a taxa metabólica de repouso por quilograma de peso nos pacientes após a cirurgia bariátrica.

Ao contrário de nossos resultados, Mingrone et al. (2003) ao analisarem a expressão dos genes *UCP2* e *UCP3* em tecido muscular de onze mulheres antes e após 24 meses de cirurgia bariátrica pelo procedimento de derivação bílio-pancreática, verificaram redução nos níveis de expressão. Da mesma forma, Mahadik et al. (2012) ao avaliarem a expressão do gene *UCP2* em tecido adiposo subcutâneo e tecido adiposo omental de 69 indivíduos, incluindo 23 controles, 26 com obesidade e 20 obesos com diabetes tipo 2, observaram redução na expressão em pacientes obesos e diabéticos comparados ao controle, mostrando redução da expressão deste gene no tecido adiposo omental comparado ao subcutâneo, ainda houve correlação negativa entre expressão de *UCP2* em tecido adiposo subcutâneo e circunferência de cintura, insulina, índice HOMA e triglicérides.

No presente estudo não houve alteração na expressão do gene *UCP3*, dados esses que condizem com os achados encontrados por Bracale et al. (2014), na qual não verificaram modificações na expressão de *UCP3* em músculo esquelético de mulheres com obesidade mórbida candidatas a cirurgia bariátrica.

As *UCPs* representam um importante alvo no combate à obesidade e as comorbidades a ela relacionadas, nesse sentido pesquisas tentam identificar associações entre polimorfismos das *UCPs* e a obesidade. Em meta-análise, Brondani et al. (2014) mostraram que o polimorfismo relacionado ao gene *UCP3* é fator de proteção para obesidade em europeus e no caso controle constituído de 282 pacientes obesos e 483 não obesos com diabetes tipo 2 não encontrou associação entre o polimorfismo e obesidade.

Phulukdarre, et al. (2013) não observaram diferenças em uma amostra de 300 pacientes, dentre os quais 100 apresentavam doença arterial coronariana (DAC) entre a frequência de polimorfismos dos genes *UCP 2* e *3* e o risco de DAC. Porém,

em indivíduos com descendência asiática o polimorfismo do gene *UCP3* foi associado ao aumento do índice de massa corporal e fator de risco para o desenvolvimento de diabetes tipo 2 (XU et al., 2011; BRONDANI et al., 2014), corroborando com esses achados Mexitalia et al. (2013) analisaram 76 adolescentes, dentre os quais 36 com obesidade e 40 eutróficos, assim verificaram que os indivíduos com polimorfismo nos genes *UCP2*, *UCP3* apresentavam menor gasto energético total.

A análise das *UCPs* tornam evidente que a energia intracelular das células do tecido adiposo desempenham importante função no metabolismo energético, sendo possíveis alvos para intervenções nutricionais personalizadas e abordagens farmacológicas, visando aumentar o gasto energético e oxidação de gordura (KOPECKY et al., 2004; DEPIERI et al., 2004).

A pirilipina 1 é a proteína mais abundante nos adipócitos, com função de regular o armazenamento de lipídios e lipólise (SMITH & ORDOVÁS, 2012). No presente estudo houve uma redução em sua expressão ao analisar antes e após 6 meses de DGYR, porém não houve diferença estatística. Ray et al. (2009) verificaram a expressão do gene *PLIN1* na região abdominal em tecido adiposo subcutâneo e omental em 10 mulheres com obesidade e 6 controles e mostraram redução da expressão deste gene e aumento no tamanho dos adipócitos em indivíduos obesos.

Condizentes com os dados encontrados no presente estudo, Wang et al. (2003) verificaram menor expressão do gene *PLIN1* em indivíduos obesos. Em contrapartida, Kern et al. (2004) observaram maior expressão do gene em questão em indivíduos obesos quando comparados a eutróficos, mostrando correlação positiva entre *PLIN1* e percentual de gordura corporal.



Ruiz et al. (2011) investigaram a associação de dois polimorfismos no gene *PLIN1* com a composição corporal, TMR, oxidação de substratos energéticos e parâmetros metabólicos no período de 12 semanas sob intervenção dietética em mulheres obesas. As mulheres que apresentavam o polimorfismo obtiveram menor redução na circunferência de cintura e diminuição na oxidação lipídica.

Ao contrário dos estudos realizados por Ruiz et al. (2011), Soenen et al. (2009) analisando o polimorfismo do gene *PLIN1* em 118 indivíduos que seguiram durante 6 semanas um protocolo para perda de peso, sendo avaliados antes, após, três meses e um ano depois da intervenção encontraram influência do polimorfismo no risco de obesidade em mulheres.

Em nosso estudo não houve redução significativa, porém observamos decréscimo nos valores de expressão gênica de *PPARG2* ao comparar antes e após a cirurgia bariátrica. Em pesquisa semelhante, ao analisar a expressão do referido gene em tecido adiposo subcutâneo de 14 indivíduos eutróficos e 24 com obesidade a expressão de *PPARG2* foi maior em mulheres obesas, apresentando forte correlação com o IMC (VIDAL-PUIG et al., 1997). Ainda, para determinar o efeito da perda de peso na expressão do gene *PPARG2*, sete indivíduos obesos foram orientados a ingerir uma dieta de baixa caloria (800 kcal) até perda de 10% do peso inicial, houve redução na expressão de *PPARG2* em 25%, dados que corroboram com os apresentados na presente pesquisa, que mostrou redução de 50% na expressão de *PPARG2* após 6 meses de cirurgia.

Kursawe et al. (2010) ao avaliar tecido adiposo subcutâneo abdominal em 26 adolescentes com esteatose hepática observou redução significativa da expressão do gene *PPARG2* em obesos e correlação negativa entre esta expressão, gordura no fígado e resistência à insulina. Modificações no PPARG estão sendo associadas

ao desenvolvimento de obesidade, aterosclerose e diabetes tipo 2, enquanto sua baixa expressão tem sido relacionada a efeitos anti obesidade (JANANI & KUMARI, 2015).

Em meta-análise realizada a partir de 25 estudos foi encontrada associação entre o polimorfismo no gene *PPARG2* e o risco de obesidade em caucasianos, asiáticos e população miscigenada. Análise realizada por pontos de corte de obesidade mostrou associações com IMC maior ou igual a 24 e 30 kg/m<sup>2</sup> (YAO et al., 2014).

Ao analisar a TMR por quilograma de peso corporal encontrou-se contribuição dos genes *UCP2* e *PLIN1* antes da cirurgia bariátrica. Esse fato comprova a importância do gene *UCP2* na produção de energia celular, significando que o aumento da sua expressão nos adipócitos está associada a uma maior TMR e conseqüentemente maior gasto energético. O gene *PLIN1* é caracterizado como uma proteína abundante nos adipócitos e estimula a lipólise, dessa maneira pode está relacionado com maior oxidação de substratos e gasto energético.

A expressão dos genes *UCP2* e *PLIN1* no período pré operatório apresentaram influência no percentual de perda de peso, ao passo que os mesmos genes corroboram para um maior gasto energético, variável fundamental para proporcionar um balanço energético negativo e induzir a perda de peso em pacientes com obesidade.

*Conclusão*

## 6 CONCLUSÃO

O tratamento cirúrgico é eficaz para redução das variáveis antropométricas, peso, índice de massa corporal, circunferência de cintura, massa corporal magra e massa gorda após seis meses. O aumento da taxa metabólica de repouso por quilograma de peso corporal e sua manutenção quando corrigida por massa corporal magra mostram a importância dessas variáveis na perda de peso após o procedimento. As modificações proporcionadas pela cirurgia bariátrica aumentam a expressão do gene *UCP2*. A expressão dos genes *UCP2* e *PLIN1* influenciam a taxa metabólica de repouso no período pré operatório e a modulação do percentual de perda de peso, contribuindo para o sucesso da cirurgia bariátrica.

## *Referências Bibliográficas*

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AARTS, F. et al. Gastric bypass may promote weight loss in overweight partners. **J Am Board Fam Med.**, v.28, n.1, p.90-96, 2015.

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

BAL, B.S. et al. Nutritional deficiencies after bariatric surgery. **Nat Rev Endocrinol.**, London, v.8, n.9, p. 544-556, 2012.

BAVARESCO, M. et al. Nutritional course of patients submitted to bariatric surgery. **Obes Surg.**, New York, v.20, p.716–721, 2010.

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

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

BRACALE, R. et al. Muscle uncoupling protein 3 expression is unchanged by chronic ephedrine/caffeine treatment: results of a double blind, randomised clinical trial in morbidly obese females. **PLoS One.**, San Francisco, v.9, n.6, p.1-8, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Relatório final da pesquisa nacional de demografia e saúde. Pesquisa nacional de demografia e saúde da criança e da mulher. 2006. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/pnds2006> Acesso em: 21 de Jan. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 424, de 19 de março de 2013. Redefine as diretrizes para a organização da prevenção e do tratamento do sobrepeso e obesidade como linha de cuidado prioritária da rede de atenção à saúde das pessoas com doenças crônicas.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL). Disponível em: [http://www.sbpt.org.br/downloads/arquivos/vigitel\\_2012.pdf](http://www.sbpt.org.br/downloads/arquivos/vigitel_2012.pdf) acesso 10 de dezembro de 2014.

BRONDANI, L.A. et al. Association of the UCP polymorphisms with susceptibility to obesity: case-control study and meta-analysis. **Mol Biol Rep.**, Dordrecht, v.41, n.8, p. 5053-5067, 2014.

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

BRONDANI, L.A. et al. The role of the uncoupling protein 1 (*UCP1*) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, Rio de Janeiro, v.56, n.4, p.215-225, 2012.

BUCHWALD, H.; OIEN, D.M. Metabolic/Bariatric Surgery Worldwide 2011. **Obes Surg.**, New York, v.23, n.4, p. 427-436, 2013.

BURGIO, E.; LOPOMO, A.; MIGLIORE, L. Obesity and diabetes: from genetics to epigenetics. **Mol Biol Rep.**, Dordrecht, 2014. In press. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11033-014-3751-z>. Acesso em: 11 de Dez. 2014.

CAREY, D.G. et al. Body composition and metabolic changes following bariatric surgery: effects on fat mass, lean mass and basal metabolic rate. **Obes Surg.**, New York, v.16, n.4, p. 469-477, 2006.

CAREY, D.G.; PLIEGO, G.J.; RAYMOND, R.I. Body composition and metabolic changes following bariatric surgery: effects on fat mass, lean mass and basal metabolic rate: six months to one- year follow-up. **Obes Surg.**, New York, v.16, n.12, p. 1602-1608, 2006.

CARRASCO, F. et al. Changes in resting energy expenditure and body composition after weight loss following Roux-en-Y gastric bypass. **Obes Surg.**, New York, v.17, n.5, p. 608-616, 2007.

CESAR, M.C. et al. Effects of roux-en-y gastric bypass on resting energy expenditure in women. **Obes Surg.**, New York, v.18, p.1376-1380, 2008.

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

COSTA, L.D. et al. Repercussão da perda de peso sobre parâmetros nutricionais e metabólicos de pacientes obesos graves após um ano de gastroplastia em Y-de-Roux. **Rev Col Bras Cir.**, Rio de Janeiro, v.37, n.2, p.96-101, 2010.

DEPIERI, T.Z. et al. UCP-3: Regulação da expressão gênica no músculo esquelético e possível relação com o controle do peso corporal. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, Rio de Janeiro, v.48, n.3, p.337-344, 2004

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

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

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

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

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

Diretrizes Brasileiras de Obesidade. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. 2009; 3: 1-85.

FANDIÑO, J. et al. Cirurgia bariátrica: aspectos clínico-cirúrgicos e psiquiátricos. **R. Psiquiatr. RS.**, v.26, n.1, p. 47-51, 2004.

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

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

FONSECA, P.H.S.; DUARTE, M.F.S. Equações que estimam a taxa metabólica de repouso em adolescentes: história e validade. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.**, Florianópolis, v.10, n.4, p. 405-411, 2008.

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



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

Hartwig, T.W. et al. Effects of bariatric surgery on the body composition of adults. **Rev Bras Cineantropom Desempenho Hum.**, Florianópolis, v.15, n.6, p.686-694, 2013.

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

Hesketh, J. et al. Nutrient-diet interactions in benefit-risk analysis. **Br J Nutr.**, Wallingford, v.95, n.6, p. 1232-1236, 2006.

Hills, A.P.; Anderson L.B.; Byrne N.M. Physical activity and obesity in children. **Br J Sports Med.**, London, v.45, n.11, p. 866–870, 2011.

Huanga, X.; Zhaob, J.; Zhaoc T. Effects of peroxisome proliferator activated receptor-gamma 2 gene Pro12Ala polymorphism on fasting blood lipids: A meta-analysis. **Atherosclerosis.**, Amsterdam, v.215, n.1, p. 136–144, 2011.

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

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

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

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

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

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

KLAUS, S. et al. Expression of uncoupling protein 1 in skeletal muscle decreases muscle energy efficiency and affects thermoregulation and substrate oxidation. **Physiol Genomics**, Bethesda, v.21, p.193–200, 2005.

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

KONTANI, Y. et al. *UCP1* deficiency increases susceptibility to diet-induced obesity with age. **Aging Cell**, Oxford, v.4, p.147–155, 2005.

KOPECKY, J. et al. Energy metabolism of adipose tissue - physiological aspects and target in obesity treatment. **Physiol Res**, Czech Republic, v.53, n.1, p.225-232, 2004.

KOUMANIS, D.J. et al. Pilot study examining the frequency of several gene polymorphisms in a morbidly obese population. **Obes Surg**, New York, v.12, n.6, p. 759-764, 2002.

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

KURSAWE, R. et al. Downregulation of *adipoq* and *ppary2* gene-expression in subcutaneous adipose tissue of obese adolescents with hepatic steatosis **Obesity**, v.18, p.1911–1917, 2010.

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

LOOS, R.J.F. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v.26, n.2, p. 211–226, 2012.

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

MANDAL, A. Study of prevalence of type 2 diabetes mellitus and hypertension in overweight and obese people. **J Family Med Prim Care**, Mumbai, v.3, n.1, p.25-28, 2014.

MARQUES-LOPES, I. et al. Aspectos genéticos da obesidade. **Rev. Nutr.**, Campinas, v.17, n.3, p.327-338, 2004.

MASUO, K.; LAMBERT, G.W. Relationships of adrenoceptor polymorphisms with obesity. **J Obes.**, New York, 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3092628/>. Acesso em: 11 de Dez. 2014.

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

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

MELO, M. E. Os números da obesidade no Brasil: VIGITEL 2009 e POF 2008-2009. Disponível em :[http://www.abeso.org.br/pdf/Obesidade%20no%20Brasil%20VIGITEL%202009%20POF2008\\_09%20%20II.pdf](http://www.abeso.org.br/pdf/Obesidade%20no%20Brasil%20VIGITEL%202009%20POF2008_09%20%20II.pdf) Acesso em 10 Dez de 2014.

MEXITALIA, M. et al. The role of uncoupling protein 2 and 3 genes polymorphism and energy expenditure in obese Indonesian children. **J Pediatr Endocr Met.**, v.26, n.5, p.441-447, 2013.

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

MIRAS, A.D.; LE ROUX, C.W. Bariatric surgery and taste: novel mechanisms of weight loss. **Curr Op Gastroenterol.**, Philadelphia, v.26, n.2, p. 140-145, 2010.

MIRRAKHIMOV, A.E et al. An association between trp64arg polymorphism of the b3 adrenoceptor gene and some metabolic disturbances. **Cardiovascular Diabetology.**, London, v.10, n.89, p.1-7, 2011.

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

NASSIF, P.A.N. et al. Alterações nos parâmetros pré e pós-operatórios de pacientes com síndrome metabólica, submetidos a bypass gastrointestinal em y de roux. **Arq Bras Cir Dig.**, São Paulo, v.22, n.3, p.165-70, 2009.

NOVAIS, P.F.S. et al. Evolução e classificação do peso corporal em relação aos resultados da cirurgia bariátrica - derivação gástrica em Y de Roux. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, Rio de Janeiro, v.54, n.3, p.303-310, 2010.

ORCI, L.; CHILCOTT, M.; HUBER, O. Short versus long roux-limb length in Roux-em-Y gastric bypass surgery for the treatment of morbid and super obesity: a systematic review of the literature. **Obes Surg.**, New York, v.21, n.6, p. 797-804, 2011.

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

PEDROSA, I.V. et al. Aspectos nutricionais em obesos antes e após a cirurgia bariátrica. **Rev Col Bras Cir.**, Rio de Janeiro, v.36, n.4, p.316-322, 2009.

PENA, S.D.J. et al. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. **PLoS One.**, San Francisco, v.6, n.2, 2011. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3040205/>. Acesso em: 11 de Dez. 2014.

PEREIRA, L.O.; FRANCISHI, R.P.; LANCHETA, A.H. Obesidade: Hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à Insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, Rio de Janeiro, v.47, n.2, p.111-127, 2003.

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

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

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

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

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

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

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

SILVA, M.A.M. et al. Frequência de fatores de risco cardiovascular antes e 6 e 12 meses após gastroplastia. **Rev Ass Med Brasil.**, São Paulo, v.59, n.4, p.381–386, 2013.

SIPILAINEN, R. et al. Polymorphism of the b3-adrenergic receptor gene affects basal metabolic rate in obese finns. **DIABETES.**, v.46, p.77-80, 1997.

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

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

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

STEFL, B. et al. Brown fat is essential for cold-induced thermogenesis but not for obesity resistance in *ap2-ucp* mice. **The American Physiological Society.**, p.527-533, 1998.

SWARBRICK, M.M. et al. A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor-g2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. **Eur J Endocrinol.**, Bristol, v.144, n.3, p. 277-282, 2001.

TAMBOLI, R.A. et al. Body composition and energy metabolism following roux-en-y gastric bypass surgery. **Obesity (Silver Spring).**, Malden, v.18, n.9, p.1718-1724, 2010.

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

THIVEL, D. et al. Surgical weight loss: Impact on energy expenditure. **Obes Surg.**, New York, v.23, p.255–266, 2013.

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

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

VIDAL-PUIG, A.J. et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. **J. Clin. Invest.**, New Haven, v.99, n.10, p.2416–2422, 1997.

WAHRLICH, V.; ANJOS, L.A. Validação de equações de predição da taxa metabólica basal em mulheres residentes em Porto Alegre, RS, Brasil. **Rev Saúde Pública.**, São Paulo, v.35, n.1, p. 39-45, 2001.

WANG, Y. et al. Pirilipin expression in human adipose tissues: effects of severe obesity, gender, and depot. **Obes Res.**, Baton Rouge, v.11, n.8, p.930-936, 2003.

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

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

World Health Organization. Global database on body mass index, BMI classification. Disponível em: [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html). Acesso em 10 de Dez 2014.

XU, K. et al. *UCP1* -866G/A and Ala55Val, and *UCP3* -55C/T polymorphisms in association with type 2 diabetes susceptibility: a meta-analysis study. **Diabetologia.**, Berlin, v.54, p.2315–2324, 2011.

YAO, Y.S. et al. Association between PPAR- $\gamma$ 2 Pro12Ala polymorphism and obesity: a meta-analysis. **Mol Biol Rep.**, Dordrecht, 2014. In press. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11033-014-3838-6> Acesso em: 22 Jan 2015.

# *Apêndices*

## APÊNDICES

### APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pacientes bariátricos.



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

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

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

Para você participar da pesquisa, você será selecionada a partir dos atendimentos no Ambulatório de Cirurgia Bariátrica do Hospital das Clínicas da FMRP-USP, realizados às quartas-feiras. De acordo com o protocolo do serviço, você será internada três dias antes da cirurgia na enfermaria de Nutrologia do HCFMRP-USP. Caso você aceite participar da pesquisa, um dia antes da cirurgia serão realizadas as seguintes avaliações:

- 1-) Medidas de peso, altura, circunferência do abdômen.
- 2-) Um exame que verifica sua quantidade de músculo e gordura. Esse exame é chamado Bioimpedância Elétrica, é indolor e não invasivo e realizado com você deitado no leito, com adesivos colados na pele a mão e pé direitos. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 4 horas. Esse exame tem duração de 3 minutos.
- 3-) Um exame que verifica seu gasto de energia chamado calorimetria indireta. Nesse exame, você ficará deitado e usará um capacete transparente pelo qual medimos a quantidade de oxigênio que está consumindo. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 8 horas. Esse exame terá duração de 30 minutos.
- 4-) Análise da sua alimentação (todos os alimentos que você consome durante um dia) por meio do questionário chamado de Recordatório 24 horas.



Durante a cirurgia, o cirurgião irá coletar 2g de tecido de gordura do abdômen aproximadamente (1/2 colher de café) para análise da expressão gênica, sendo importante ressaltar que isso não modificará os resultados da cirurgia.

Após seis meses da cirurgia você terá que retornar ao hospital e ficará internado por cerca de seis horas para que todos os procedimentos sejam realizados novamente. Neste momento, para coleta de tecido de gordura do abdômen (1/2 colher de café), o médico cirurgião irá realizar um pequeno corte (1cm) e profundidade de 2cm no seu abdômen com anestesia local que será fechado com pontos. Esse procedimento poderá causar leves desconfortos como dores, hematomas e inchaços no local.

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

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

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

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

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

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

Ribeirão Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome por extenso da participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura da participante

\_\_\_\_\_  
Nome por extenso do pesquisador da equipe

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador da equipe

**APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pacientes eutróficos.**

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

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

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

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

- 1-) Medidas de peso, altura, circunferência do abdômen.
- 2-) Um exame que verifica sua quantidade de músculo e gordura. Esse exame é chamado Bioimpedância Elétrica, é indolor e não invasivo e realizado com você deitado no leito, com adesivos colados na pele da mão e pé direitos. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 4 horas. Esse exame tem duração de 3 minutos.
- 3-) Um exame que verifica seu gasto de energia chamado calorimetria indireta. Nesse exame, você ficará deitado e usará um capacete transparente pelo qual medimos a quantidade de oxigênio que está consumindo. Para realização desse exame será necessário que você fique em jejum de pelo menos 8 horas. Esse exame terá duração de 30 minutos.
- 4-) Análise da sua alimentação (todos os alimentos que você consome durante um dia) por meio do questionário chamado de Recordatório 24 horas.

Todas as avaliações serão realizadas em um único momento.

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

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

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

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

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

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

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

Ribeirão Preto, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome por extenso da participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura da participante

\_\_\_\_\_  
Nome por extenso do pesquisador da equipe

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador da equipe

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

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO  
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**TERMO DE CONSENTIMENTO PARA GUARDA DE MATERIAL BIOLÓGICO**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Atenciosamente,

---

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

### **Certificado de Consentimento**

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

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

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

Ribeirão Preto, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.


---

Assinatura do doador ou responsável


*Anexos*

## ANEXOS

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



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



Ribeirão Preto, 25 de setembro de 2013

Ofício nº 3550/2013  
CEP/FC

**PROCESSO HCRP nº 9201/2013**

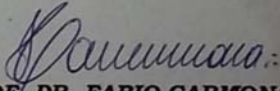
**Prezados Pesquisadores,**

O trabalho intitulado **“ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO GASTO ENERGÉTICO DE INDIVÍDUOS OBESOS GRAU III ANTES E APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA” Versão 2 modificado em 02/08/2013**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 374ª Reunião Ordinária realizada em 23/09/2013, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 2 modificado em 02/08/2013 e o Termo de Consentimento para Guarda de Material Biológico Versão 2 modificado em 02/08/2013.

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

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

Atenciosamente.



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

Ilustríssimos Senhores  
**BRUNO AFFONSO PARENTI DE OLIVEIRA**  
**PROFª DRª CARLA BARBOSA NONINO (Orientadora)**  
Depto. de Clínica Médica

---

Campus Universitário – Monte Alegre  
14048-900 Ribeirão Preto SP

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

www.hcrp.usp.br

## ANEXO B - Aprovação da pesquisa nas dependências do Hospital Estadual.



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



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

Ribeirão Preto, 13 de novembro de 2013.

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

**Pesquisador Principal:** Bruno Affonso Parenti de Oliveira

Contatos: Tel.: (16) 99715-3118

e-mail: bruno\_parenti@hotmail.com  
bruno\_parenti@usp.br

**Orientadora:** Prof. Dra. Carla Barbosa Nonino

Contatos: Tel.: (16) 98124-0707

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

**Área de especialização:**

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

- parecer com APROVAÇÃO do Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRPUSP  
 outros .....

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

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

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

*Bruno AP de Oliveira*  
Bruno Affonso Parenti de Oliveira  
Pesquisador Principal

*Prof Dr Wilson Salgado Júnior*  
Prof Dr Wilson Salgado Júnior  
Diretor Geral