

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR

JOSÉ FABIANO COSTA JUSTUS

PADRÕES CIRCADIANOS DE HORMÔNIOS E ADIPOCINAS EM
PACIENTES OBESOS ANTES E APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA

CURITIBA

2013

JOSÉ FABIANO COSTA JUSTUS

PADRÕES CIRCADIANOS DE HORMÔNIOS E ADIPOCINAS EM
PACIENTES OBESOS ANTES E APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos.

Coorientadora: Dra. Elaine Vieira.

CURITIBA
2013

Justus, José Fabiano Costa

Padrões circadianos de hormônios e adipocinas em pacientes obesos antes e após cirurgia bariátrica / José Fabiano Costa Justus. – Curitiba – 2013.

63p. : il.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos
Tese (Doutorado) – Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica.

1. Cirurgia bariátrica. 2. Ritmo circadiano. 3. Hormônios. 4. Adipocinas. I. Título. II. Campos, Antônio Carlos Ligocki.

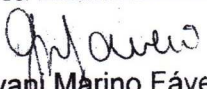
NLM: WO 100



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA CIRÚRGICA
NÍVEL - MESTRADO E DOUTORADO

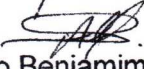
Ata do julgamento da 160ª Tese de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da Universidade Federal do Paraná, referente ao aluno **JOSÉ FABIANO COSTA JUSTUS** sob o título **PADRÕES CIRCADIANOS DE HORMÔNIOS E ADIPOCINAS EM PACIENTES OBESOS ANTES E APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA** na **Linha de Pesquisa: Repercussões Anátomo-Funcionais da Cirurgia Bariátrica** **Área de Concentração: Clínica Cirúrgica** tendo como orientador Professor Doutor Antonio Carlos L. Campos.

Às sete horas e trinta minutos do dia vinte de setembro de dois mil e treze no Auditório da CAD 7º andar sala 701 do prédio central do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, reuniu-se, em sessão pública, a Banca Examinadora de Avaliação composta pelos Professores Doutores Giovani Marino Fávero, Marcos Ricardo Silva Rodrigues, Everso Krum, Alfredo Benjamim Duarte da Silva e Alexandre Coutinho Teixeira de Freitas sendo este último Presidente da Banca. Aberta a sessão, foi apresentada pelo Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias, Vice-coordenador do Programa, a documentação probatória do cumprimento pelo candidato das exigências legais que lhe facultam submeter-se à avaliação da tese, como última etapa à sua titulação no Programa. A seguir o Presidente da Banca Examinadora convidou o candidato a apresentar oralmente resumo de sua tese no prazo máximo de até trinta minutos para demonstração de sua capacidade didática e para melhor conhecimento do tema por parte da audiência composta de professores, médicos, alunos, familiares e demais interessados. Seguiu-se a arguição e imediata resposta pelo candidato, sucessivamente pelos componentes da Banca Examinadora. Obedecido o tempo máximo de vinte minutos para a arguição e igual tempo para cada resposta. Terminada a etapa de arguição, reuniu-se a Banca Examinadora em sala reservada para atribuição das notas, dos conceitos e lavratura do Parecer Conjunto. O candidato foi **APROVADO** considerando-se os parâmetros vigentes estabelecidos pelo programa e regidos pela legislação pertinente da instituição. Voltando à Sala de Sessão, o Senhor Presidente da Banca Examinadora leu os conceitos do Parecer Conjunto e deu por encerrada a sessão. E para constar, eu, Regina Aparecida Sass Marques, Secretária desta Pós-Graduação lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada será assinada pelos componentes da Banca Examinadora.


Giovani Marino Fávero


Marcos Ricardo Silva Rodrigues


Everso Krum


Alfredo Benjamim Duarte da Silva


Alexandre Coutinho Teixeira de Freitas

Dedico este trabalho à minha família,
especialmente à minha esposa Michéle,
pelo apoio e amor incondicional, e ao meu
filho João Carlos, motivação para sempre
seguir adiante.

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não são mencionadas neste discurso.

Inicialmente, agradeço a Deus, pela possibilidade da vida e do crescimento enquanto ser humano.

Agradeço ao Prof. Dr. Antonio Carlos Ligocki Campos, Coordenador do Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica e meu orientador, pela sabedoria com que me guiou nesta trajetória.

À Dra. Elaine Vieira, minha co-orientadora pela grande ajuda na condução dos trabalhos e viabilização da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias, vice-coordenador do Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica, pelos encaminhamentos realizados e à Secretaria da Pós-Graduação, na figura de Regina Sass, pela cooperação.

Ao Dr. Fábio Quirillo Milléo, cirurgião responsável neste estudo e grande articulador, sem o qual esta pesquisa não aconteceria.

Ao Dr. Giovanni Marino Fávero, amigo e importante incentivador do meu engajamento à pesquisa de alto nível.

Ao Dr. Marcos Ricardo da Silva Rodrigues, pela grande ajuda para o início da pesquisa e ao mestrando Paulo Vinícius Svidinicki (Pós Graduação em Biologia Evolutiva - UEPG), pelo auxílio durante etapa experimental do estudo.

Ao INSPAM (Instituto de Pesquisa Médicas Aplicadas), de Ponta Grossa, Paraná e ao *Diabetes and Obesity Laboratory*, IDIBAPS, CIBERDEM, *Barcelona, Spanha*, pela viabilidade econômica do estudo. Ao Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, na figura do Prof. Dr. Marco Aurélio Santo, e ao Instituto Carlos Chagas (ICC) da Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ), na figura da Prof^a. Dra Iriane Eger, por oportunizarem realização de parte da etapa experimental.

Agradeço aos meus amigos Juliana e Paulo Zaratini, Jeiel Marques Pinto e José Valdevino Dias, que souberam ouvir e aconselhar, ou simplesmente trazer humor aos momentos difíceis desse caminhar.

Gostaria de deixar registrado o reconhecimento à minha família, pois acredito que sem esse apoio seria muito difícil vencer o desafio. Não posso deixar de citar minha mãe Naida, meu pai Luiz Carlos, minha irmã Karla, meu cunhado Osvaldo, meu *sobrinho* Guilherme, minha sogra Marlei e meu filho João Carlos, que souberam entender os momentos de ausência.

Agradecimento especial presto à minha esposa Michéle pelo carinho com que me acolheu e amor que me ofereceu, trazendo luz a momentos onde o caminho se fez obscuro.

E por último, e nem por isso menos importante, agradeço a todos os que não foram citados mas, de alguma forma, contribuíram para a realização desta pesquisa.

O Senhor é meu pastor, nada me faltará.
Em verdes prados ele me faz descansar.
Para águas tranquilas ele me conduz,
restaura as forças de minha alma;
ele me guia por caminhos justos,
por amor de seu nome.
(Salmo 23 – O bom pastor)

RESUMO

Ingestão de excesso de comida e falta de atividade física estão relacionados à crescente epidemia mundial de obesidade e síndrome metabólica. Vários estudos clínicos epidemiológicos levantaram a hipótese de que uma das principais mudanças que contribui para a patogênese da obesidade envolve distúrbios dos ritmos circadianos. Muitas moléculas metabólicas importantes, como hormônios e adipocinas, apresentam oscilações circadianas, porém não é conhecido se eles são alterados na obesidade e também se seus níveis podem ser mudados após cirurgia bariátrica. Objetivo deste trabalho é estudar a influência da obesidade no padrão circadiano de hormônios e adipocinas, e o impacto da cirurgia denominada adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial (DSP) sobre esses padrões. A população estudada foi composta por 6 pacientes obesos com IMC > 35 kg/m² e 4 controles saudáveis com IMC < 25 kg/m². A cirurgia realizada neste estudo foi a gastrectomia vertical com bipartição intestinal, chamada adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial (DSP). O plasma dos sujeitos da pesquisa foi coletado em momentos diferentes do dia: 7h, 13h, 19h, 23h, 7h. Níveis séricos de Adiponectina e Leptina foram determinados através de *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e GIP, GLP-1, Glucagon, Grelina, Insulina, PAI-1, Peptídeo -C, resistina e visfatina através de tecnologia Bio-Plex Luminex. O estudo demonstrou que a obesidade aumenta os padrões circadianos de leptina ($p = 0,0001$) e reduz os níveis de adiponectina ($p = 0,03$); não influencia os padrões de GIP, PAI-1 e visfatina. A DSP reduz os padrões de leptina ($p = 0,0001$) durante o dia e à noite; baixa os níveis de resistina durante o dia ($p = 0,007$) e à noite ($p = 0,02$); durante o dia e à noite eleva insulina ($p = 0,03$ e $p = 0,003$) e peptídeo-C ($p = 0,03$) e aumenta grelina ($p = 0,03$) e visfatina ($p = 0,03$) durante a noite.

Palavras-chave: Cirurgia Bariátrica, Ritmo Circadiano, Hormônios e Adipocinas.

ABSTRACT

CIRCADIAN PATTERNS OF HORMONES AND ADIPOKINES IN OBESE PATIENTS BEFORE AND AFTER BARIATRIC SURGERY

Excessive food intake and lack of physical activity are related to the epidemic worldwide growing of obesity and metabolic syndrome. Several clinical epidemiological studies hypothesized that a major change that contributes to the obesity pathogenesis involves disorders of circadian rhythms. Many important metabolic molecules, such as hormones and adipokines, exhibit circadian oscillations. Although it is known that some hormones and adipokines exhibit circadian patterns, it is not known if they are altered in obesity and also their levels can be changed after bariatric surgery. The aim of this work is to study the influence of obesity on circadian pattern of hormones and adipokines, and the impact of digestive adaptation with partial duodenal switch on these patterns. The study population was composed of 6 obese patients with Body Mass Index (BMI) > 35 kg/m² and 4 healthy controls with a BMI < 25 kg/m². The surgery performed in this study was sleeve gastrectomy with transit bipartition called digestive adaptation with partial duodenal switch (PDS). The plasma of the subjects was collected at different times of the day (7 h, 13 h, 19 h, 23 h, 7 h) in the pre and postoperatively. Serum levels of adiponectin and leptin were determined by the method enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and GIP, GLP-1, glucagon, ghrelin, insulin, PAI-1, C-Peptide, resistin and visfatin were determined by Bio-Plex Luminex technology. The study showed that the obesity increases the circadian patterns of leptin ($p = 0,0001$) and levels of adiponectina ($p = 0,03$); and does not influence the patterns of GIP, PAI-1 and visfatin. The PDS normalizes (reduces) the patterns of leptin ($p = 0,0001$) during the day and at night, reduces levels of resistin during the day ($p = 0,007$) and at night ($p = 0,02$); during the day and night increases insulin ($p = 0,03$ e $p = 0,003$) and C-peptide ($p = 0,03$); increases ghrelin ($p = 0,03$) and visfatin ($p = 0,03$) during the night; and is not able to correct the patterns of adiponectin, or influence patterns of PAI-1 and GIP.

Key-words: Bariatric surgery, Circadian rhythms, Hormones and adipokines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Técnicas mais realizadas de Cirurgia Bariátrica	24
Figura 2: Cirurgia de Adaptação Digestiva com <i>Duodenal Switch</i> Parcial	25
Figura 3: Horários de coleta	30
Figura 4: Tecnologia Bio-Plex	31
Figura 5: Procedimento Bio-Plex.....	32
Figura 6: Leitura na tecnologia Bio-Plex.....	32
Figura 7: Variação individual do IMC dos indivíduos obesos nas etapas pré e pós da pesquisa.....	35
Figura 8: Variação média do IMC dos indivíduos obesos nas etapas pré e pós da pesquisa.....	35
Figura 9: Média das idades dos sujeitos da pesquisa	35
Figura 10: Concentração sérica de Adiponectina no T_0	36
Figura 11: Curva da concentração sérica de Adiponectina em função do tempo.....	36
Figura 12: Médias das AUCs de Adiponectina	36
Figura 13: Concentração sérica de Adiponectina durante o dia e a noite, antes e após DSP	36
Figura 14: Concentração sérica de GIP no T_0	37
Figura 15: Curva da concentração sérica de GIP em função do tempo	37
Figura 16: Médias das AUCs de GIP	37
Figura 17: Concentração sérica de GIP durante o dia e a noite, antes e após DSP .	37
Figura 18: Concentração sérica de GLP-1 no T_0	37
Figura 19: Curva da concentração sérica de GLP-1 em função do tempo.....	37
Figura 20: Médias das AUCs de GLP-1	38
Figura 21: Concentração sérica de GLP-1 durante o dia e a noite, antes e após DSP	38
Figura 22: Concentração sérica de Glucagon no T_0	38
Figura 23: Curva da concentração sérica de Glucagon em função do tempo	38
Figura 24: Médias das AUCs de Glucagon	38
Figura 25: Concentração sérica de Glucagon durante o dia e a noite, antes e após DSP	38
Figura 26: Concentração sérica de Grelina no T_0	39
Figura 27: Curva da concentração sérica de Grelina em função do tempo.....	39
Figura 28: Médias das AUCs de Grelina	39
Figura 29: Concentração sérica de Grelina durante o dia e a noite, antes e após DSP	39
Figura 30: Concentração sérica de Insulina no T_0	40
Figura 31: Curva da concentração sérica de Insulina em função do tempo.....	40
Figura 32: Médias das AUCs de Insulina	40
Figura 33: Concentração sérica de Insulina durante o dia e a noite, antes e após DSP	40
Figura 34: Concentração sérica de Leptina no T_0	41
Figura 35: Curva da concentração sérica de Leptina em função do tempo	41
Figura 36: Médias das AUCs de Leptina.....	41
Figura 37: Concentração sérica de Leptina durante o dia e a noite, antes e após DSP	41
Figura 38: Concentração sérica de PAI-1 no T_0	42

Figura 39: Curva da concentração sérica de PAI-1 em função do tempo	42
Figura 40: Médias das AUCs de PAI-1.....	42
Figura 41: Concentração sérica de PAI-1 durante o dia e a noite, antes e após DSP	42
Figura 42: Concentração sérica de Peptídeo-C no T_0	42
Figura 43: Curva da concentração sérica de Peptídeo-C em função do tempo	42
Figura 44: Médias das AUCs de Peptídeo-C.....	43
Figura 45: Concentração sérica de Peptídeo-C durante o dia e a noite, antes e após DSP	43
Figura 46: Concentração sérica de Resistina no T_0	43
Figura 47: Curva da concentração sérica de Resistina em função do tempo.....	43
Figura 48: Médias das AUCs de Resistina	44
Figura 49: Concentração sérica de Resistina durante o dia e a noite, antes e após DSP	44
Figura 50: Concentração sérica de Visfatina no T_0	44
Figura 51: Curva da concentração sérica de Visfatina em função do tempo	44
Figura 52: Médias das AUCs de Visfatina	44
Figura 53: Concentração sérica de Visfatina durante o dia e a noite, antes e após DSP	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Idade, peso, altura e IMC dos indivíduos não obesos.....	34
Tabela 2: Idade, peso, altura e IMC dos indivíduos obesos nas etapas pré e pós da pesquisa.....	34

LISTA DE SIGLAS

AGL	ácidos graxos livres
ARNT	<i>arylhydrocarbon receptor translocator nuclear</i>
ATP	tri fosfato de adenosina
AUC	<i>area under curve</i> (área sobre a curva)
BMAL1	<i>brain and muscle ARNT-like protein-1</i>
COEP	comitê de ética em pesquisa
DM2	diabetes Mellitus tipo 2
DBP	derivação biliopancreática
DSP	adaptação digestiva com Duodenal Switch Parcial
EDTA	etileno diamino tetra acético
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
GIP	<i>glucose-dependent insulintropic peptide</i>
GLP-1	<i>glucagon-like peptide-1</i>
HL	hipotálamo lateral
HVM	hipotálamo ventromediano
IMC	índice de Massa Corpórea
INSPAM	Instituto de Pesquisa Aplicada em Medicina
NSQ	núcleo supraquiásmico
PAI-1	inibidor de ativação do plasminogênio
TGI	trato gastro intestinal
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
TAB	tecido adiposo branco
TAM	tecido adiposo marrom
TNF- α	fator de necrose tumoral alfa
TNG	tolerância normal à glicose
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 OBJETIVOS DO ESTUDO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FISIOLOGIA DO PROCESSO DIGESTIVO	16
2.2 EQUILÍBRIO ENERGÉTICO: ATUAÇÃO DE HORMÔNIOS E ADIPOCINAS... ..	17
2.3 REGULAÇÃO CIRCADIANA	20
2.3.1 Regulação Circadiana e Obesidade	21
2.4 A CIRURGIA BARIÁTRICA.....	23
2.4.1 Impactos da Cirurgia Bariátrica sobre Hormônios e Adipocinas	25
3 PACIENTES E MÉTODO	28
3.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA	28
3.2 O UNIVERSO DA PESQUISA	28
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	28
3.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	29
3.5 COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	29
3.6 QUANTIFICAÇÃO DE HORMÔNIOS E ADIPOCINAS.....	31
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	33
4 RESULTADOS	34
4.1 PACIENTES.....	34
4.2 HORMÔNIOS E ADIPOCINAS	35
5 DISCUSSÃO	46
6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	51
6.1 CONCLUSÃO	51
6.2 PERSPECTIVAS	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXO A - Parecer do COEP	58
ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	60
ANEXO C – Autorização para Utilização de Figuras	62

1 INTRODUÇÃO

Estudos clínicos levantaram a hipótese de que uma das principais mudanças que contribui para a patogênese da obesidade e síndrome metabólica envolve distúrbios dos ritmos circadianos (VIEIRA *et al*, 2012; BASS; TAKAHASHI, 2010; TAHERI *et al*, 2004). Mudanças de turno de trabalho e a privação do sono são relacionados à resistência à insulina (perda da capacidade de responder à insulina que alguns tecidos apresentam, geralmente em decorrência à obesidade) e ao aumento da prevalência de adiposidade e diabetes mellitus tipo 2 (SPIEGEL *et al*, 2005; KNUTSSON, 2003). Muitas moléculas metabólicas importantes, como hormônios e adipocinas (proteínas secretadas pelo tecido adiposo), apresentam oscilações circadianas (PTITSYN *et al*, 2006). Contudo, não é totalmente conhecido de que forma esses padrões estão alterados em indivíduos obesos. A partir disso, ressalta-se a importância de estudar os ritmos circadianos de hormônios para identificar novos agentes na obesidade.

Por outro lado, as cirurgias bariátricas fornecem resultados consistentes quanto à perda de peso em pacientes obesos e apresentam grande potencial para corrigir ou melhorar distúrbios metabólicos associados à obesidade. No entanto, alguns indivíduos apresentam recuperação de peso após a cirurgia. O mecanismo que explica a recuperação do peso é ainda desconhecido (DEYLGAT *et al*, 2012). Curiosamente, indivíduos obesos que tiveram distúrbios no ritmo circadiano devido à mudança de turno de trabalho exibiram maior ganho de peso após a cirurgia bariátrica que trabalhadores que não tiveram mudança de turno. Estes resultados indicam um mecanismo intrínseco na regulação dos ritmos circadianos, que não poderia ser corrigidos através de cirurgia bariátrica (KETCHUM; MORTON, 2007). Estudos mostram que as mudanças no trato digestivo provocadas pela cirurgia influenciam o metabolismo corporal, o que parece estar diretamente relacionado à secreção de hormônios e adipocinas. Contudo, a literatura é controversa a este respeito. Por exemplo, Deylgat e colaboradores (2009) demonstram que perturbações da secreção circadiana de GLP-1 (*glucagon-like-peptide-1*) foram revertidas em indivíduos com tolerância à glicose normal, mas não conseguiram ser superados pela derivação biliopancreática (DBP) em pacientes com diabetes. Contrariamente, a secreção circadiana de GIP (*glucose-dependent insulinotropic*

polypeptide) foi reduzida após a cirurgia apenas em pacientes diabéticos (DEYLGAT *et al*, 2009). Portanto, não está claro se a perda de peso e melhora dos parâmetros metabólicos após cirurgia bariátrica pode corrigir oscilações circadianas de hormônios e adipocinas em indivíduos obesos.

A forte associação entre distúrbios em ritmos circadianos e distúrbios metabólicos justifica estudar a regulação circadiana de hormônios e adipocinas em indivíduos obesos. Além disso, o estudo dos ritmos circadianos dos hormônios e adipocinas, antes e após a cirurgia bariátrica pode ajudar a identificar novos agentes envolvidos na patogênese da obesidade, bem como apontar para fatores predisponentes ao ganho de peso.

1.1 OBJETIVOS DO ESTUDO

Estudar a influência da obesidade no padrão circadiano de hormônios e adipocinas, e o impacto da cirurgia bariátrica de adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial (DSP) sobre esses padrões.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FISIOLOGIA DO PROCESSO DIGESTIVO

A principal fonte de energia para os mecanismos celulares é o ATP (trifosfato de adenosina). O corpo é capaz de produzir ATP a partir de carboidratos, lipídeos, proteínas, entre outras substâncias. Entretanto, a alimentação dos mamíferos se dá, na maioria dos casos, através da ingestão de partículas sólidas e macromoléculas que necessitam ser processadas antes de sua utilização pelo organismo.

O Trato Gastro Intestinal (TGI) é constituído de uma série de estruturas que se estendem da boca ao ânus, chamadas trato alimentar, bem como de órgãos anexos. Em conjunto, as principais funções dessas estruturas são a motilidade para propulsão do alimento, a secreção de substâncias capazes de ocasionar a digestão da comida, a absorção dos nutrientes e a excreção de resíduos.

A motilidade se refere às contrações sequenciais proporcionadas pela musculatura lisa de revestimento do TGI. Devido às estruturas que permitem a comunicação entre essas células, uma onda de contração chamada peristaltismo, percorre o trato alimentar. Essas contrações atuam impelindo a comida, misturando o alimento com os sucos digestivos e forçando os materiais contra as paredes do TGI e, assim, proporcionando absorção de nutrientes.

A função secretora do TGI relaciona-se a órgãos glandulares que se dispõem ao longo do TGI e lançam seus fluídos tanto na luz do trato alimentar quanto na corrente sanguínea. Tais secreções têm diversas funções no processo de degradação de macromoléculas, regulação sobre os processos envolvidos na digestão, bem como no equilíbrio energético do corpo (BERNE, 2009).

A digestão, por sua vez, envolve uma série de processos químicos e físicos cuja finalidade é modificar o alimento, transformando-o em unidades capazes de atravessar membranas celulares. A absorção, finalmente, consiste nesse transporte de substâncias através das membranas celulares ao longo do TGI até que cheguem à corrente circulatória. A partir da corrente sanguínea os nutrientes são distribuídos por todo o organismo provendo as células de substratos para seu funcionamento.

Substâncias oriundas da digestão e que não atravessam membranas celulares são armazenadas no trato alimentar e posteriormente eliminadas nas fezes. Fluídos secretados por órgãos acessórios como o fígado, conduzem resíduos do metabolismo corporal e também se aproveitam das fezes para a eliminação, compondo a função excretora do TGI.

Todas essas funções são, obviamente, relevantes à manutenção de um organismo hábil. E sustentar esses processos funcionando adequadamente envolve diversos mecanismos de controle, cada qual com suas especificidades, mediadores e interações com outros mecanismos fisiológicos.

2.2 EQUILÍBRIO ENERGÉTICO: ATUAÇÃO DE HORMÔNIOS E ADIPOCINAS

Uma vez que a alimentação dos seres humanos é intermitente, o indivíduo experimenta momentos com grandes diferenças no aporte de nutrientes. Cada momento recebe denominação distinta e envolve determinadas repostas fisiológicas para a manutenção de quantidades adequadas de glicose, ácidos graxos livres (AGL) e proteínas, por exemplo.

Chama-se de *fase digestiva* ou *absortiva* o período de duas a três horas após uma refeição. A *fase interdigestiva* ou *pós-absortiva* é o período entre refeições. Jejum é considerado o período entre a última refeição de um dia, normalmente à noite, e a primeira refeição na manhã do dia seguinte. O Exercício extenuante ou trabalho físico é o período em que se requer uma demanda energética maior, por um período de tempo relativamente curto. Diversas substâncias estão envolvidas em cada fase.

A **insulina**, por exemplo, é um hormônio produzido pelo pâncreas e capaz de reduzir as taxas séricas de glicose e AGL devido (1) promover captação e utilização dessas substâncias pelos tecidos muscular e adiposo; (2) aumentar o estoque de glicogênio no fígado e músculo; (3) reduzir a produção de glicose pelo fígado; (4) induzir a síntese protéica e inibir a proteólise em tecidos periféricos; (5) inibir a lipólise e estimular a síntese de triglicerídeos no tecido adiposo (GUYTON, 2006).

A glicose é o principal estímulo à secreção de insulina, porém outros fatores nutricionais de uma refeição (alguns AAs e, em menor escala, ácidos graxos),

estimulação nervosa e alguns hormônios entero-endócrinos (chamados incretinas), também estimulam a secreção de insulina. As catecolaminas epinefrina (medula supra renal) e a norepinefrina (Sistema Nervoso Autônomo Simpático), no entanto, reduzem a liberação de insulina (BERNE, 2009). Os níveis de insulina se relacionam com os níveis de adiposidade.

O peptídeo-1 semelhante ao glucagon (*glucagon-like peptide-1* ou **GLP-1**) e o polipeptídeo insulínico dependente de glicose (*glucose-dependent insulintropic polypeptide* ou **GIP**) incrementam a secreção de insulina em resposta à glicose presente no intestino delgado, sendo chamados *incretinas*. A liberação de insulina responde de forma mais potente aos hormônios incretínicos que, por exemplo, à administração endovenosa de quantidade equivalente de glicose (GRANELL, 2006).

Secretado pelas células L situadas no intestino distal, o GLP-1, está relacionado à redução no aporte de alimentos ao reduzir a motilidade estomacal e aumentar o tempo para esvaziamento gástrico. Essas ações provocam redução da absorção de glicose nas primeiras porções do intestino e, conseqüentemente, das taxas glicêmicas, o que implica em redução das taxas de insulina no pós-prandial (MEIER, 2005).

As células K, localizadas principalmente no intestino proximal secretam GIP (também chamado peptídeo inibidor gástrico). Sua principal função é estimular as células beta pancreáticas a secretar insulina em resposta à glicose, sendo sua liberação intensa no período pós-prandial (VILSBOLL *et al.*, 2003). Uma vez que também aumenta a lipogênese (BAGGIO; DRUCKER, 2007), tem sido associado com obesidade, o que é reforçado por estudos que mostram redução do acúmulo de gordura em ratos *knock out* de receptores GIP (MIYAWAKI *et al.*, 2002).

O peptídeo conector (**peptídeo C**) é um peptídeo envolvido na síntese da insulina, sendo considerado um marcador da sua produção. Assim sendo, através da dosagem do peptídeo C no plasma é possível avaliar, de forma indireta, a capacidade secretória de insulina pelo pâncreas. Baixas taxas de peptídeo C têm sido associadas ao diabetes *mellitus* tipo 1 (GROSS *et al.*, 2002).

No período interdigestivo ou durante o jejum a taxa sérica de glicose diminui. Nesse momento um hormônio antagonista da insulina, o **glucagon**, eleva as taxas séricas de glicose ao induzir glicogenólise no fígado. O principal estímulo à secreção de glucagon é a queda na concentração sanguínea de glicose, porém catecolaminas circulantes atuam em receptores alfa adrenérgicos, elevando os níveis de glucagon.

Refeição rica em proteínas também eleva essas taxas para garantir quantidade suficiente de glicose durante dieta pobre em carboidratos. A liberação de glucagon é diminuída por nova secreção de insulina e pelo GLP-1 (KAZAKOS, 2011).

O tecido adiposo também é extremamente importante no equilíbrio energético (PRINS, 2002). Podemos diferenciar o *tecido adiposo marrom* (TAM) e o *tecido adiposo branco* (TAB). O TAM é importante na termogênese de recém-nascidos, porém apresenta-se reduzido em adultos. O TAB encontra-se em depósitos subcutâneos e intra-abdominais (gordura visceral omental e mesentérica) e apresenta três funções principais: agir como barreira mecânica ao trauma, servir como depósito mobilizando facilmente ácidos graxos livres e glicerol em períodos de jejum, e agir como órgão endócrino e parácrino, segregando substâncias chamadas *adipocinas* como a **leptina**, a **adiponectina**, a **visfatina**, a **resistina** (COST; DUARTE, 2006; REXFORD, 2006).

A leptina é uma substância produzida pelo tecido adiposo (TRAYHURN; WOOD, 2005; PRINS, 2002), cujos níveis se correlacionam positivamente com a massa de tecido adiposo (HAVEEL, 2004; SEUFERT, 2004; JEQUIER, 2002). Atua no balanço energético e na fertilidade, influenciando a liberação de GnRH e gonadotrofinas (MITCHELL *et al*, 2005). Apresenta ação pró-inflamatória e moduladora da imunidade (FANTUZZI, 2005; MITCHELL *et al*, 2005). Uma de suas ações periféricas mais importantes é a redução da síntese e secreção de insulina (SEURFERT, 2004).

No hipotálamo, a leptina informa sobre as reservas de gordura induzindo redução na ingestão alimentar. Elevadas concentrações séricas de leptina são detectadas pelo hipotálamo ventromediano (HVM) e diminuem o aporte de alimentos. Baixos níveis de leptina atuam no hipotálamo lateral (HL), aumentando a ingestão de alimentos (TRAYHURN; WOOD, 2005; JEQUIER, 2002; PRINS, 2002). Paradoxalmente, indivíduos obesos apresentam quantidade de leptina até maior que indivíduos magros, porém apresentam *resistência à leptina* (KARMAZYN *et al*, 2008; OLIVEIRA Jr. *et al*, 2010; PRINS, 2002; JEQUIER, 2002).

A **adiponectina** é um peptídeo produzido exclusivamente pelos adipócitos, dependendo do estado nutricional. Potencializa a ação hepática da insulina, diminuindo os triglicerídeos a nível hepático e muscular. Tem ação antiinflamatória, resultante de efeitos inibitórios sobre o *fator de necrose tumoral alfa* (TNF- α). As taxas séricas de adiponectina encontram-se diminuídas na resistência à insulina

(perda da capacidade de alguns tecidos responderem à insulina) e obesidade (BERG; SCHERER, 2005; DREVON, 2005; XU *et al*, 2003), tendendo a aumentar com a perda de peso (FARAJ *et al*, 2003).

A **visfatina** é um peptídeo expresso preferencialmente pelo tecido adiposo visceral capaz de mimetizar os efeitos da insulina, ativando seus receptores (FANTUSSI, 2005). A visfatina se encontra elevada em pacientes obesos (UNLÜTÜRK *et al*, 2010; LIN *et al*, 2009).

A **resistina**, no entanto, é uma adipocina capaz de induzir resistência à insulina e, em virtude disso, recebeu tal nome. Altas taxas de resistina também inibem a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos, exercendo papel no controle negativo na formação dessas células (GREGOIRE, 2001). As taxas séricas de resistina estão aumentadas na obesidade (STEPPAN, *et al*, 2001; STEPPAN; LAZAR, 2002).

O inibidor de ativação do plasminogênio (**PAI-1**) é uma substância produzida pelo fígado. Porém em indivíduos obesos, sua principal fonte é o tecido adiposo. Sua secreção é estimulada pela insulina e corticóides e está quantitativamente relacionado à gordura visceral (TRAYHURN, 2005).

A **grelina**, por sua vez, não é uma adipocina. É um peptídeo oriundo de células das glândulas oxínticas do estômago e é reportado como hormônio de efeitos opostos à leptina por apresentar atividade orexigênica potente em centros hipotalâmicos (TSCHOP *et al*, 2000; OVERDUIN *et al*, 2005). Os níveis plasmáticos de grelina se elevam com uma ou duas horas de antecedência a uma refeição, reduzindo imediatamente após ela (LEIDY *et al*, 2004). Os níveis de grelina são influenciados por mudanças no estado nutricional, estando aumentados em estados de anorexia nervosa e diminuídos na obesidade (ROSICKA *et al*, 2003). Gale e colaboradores corroboram com essa informação citando que a maioria dos obesos tem níveis de grelina inferiores aos dos indivíduos não obesos (GALE *et al*, 2004; LEONETTI *et al*, 2003).

2.3 REGULAÇÃO CIRCADIANA

Muitos organismos têm ritmos de 24 horas no seu comportamento e fisiologia do metabolismo, os quais são movidos por marcapassos circadianos

celulares (LOWREY; TAKAHASHI, 2004). Circuitos complexos permitem a organismos coordenar processos fisiológicos em resposta às mudanças ambientais. Pressão arterial, metabolismo de lipídios e carboidratos, bem como a secreção de hormônios como a insulina, leptina e cortisol são alguns exemplos dos muitos aspectos da fisiologia dos mamíferos que estão sujeitos a oscilações circadianas. Por exemplo, concentrações de leptina circulante apresentam um padrão diário, com concentrações máximas noturnas (SINHA *et al*, 1996; SAAD *et al*, 1998). Uma variedade de adipocinas demonstraram sofrer oscilações circadianas e cerca de 20% dos genes ativos do tecido adiposo branco de ratos exibem ciclos de 24 horas (PTITSYN *et al*, 2006).

O relógio biológico coordena respostas metabólicas adequadas nos tecidos periféricos de acordo com o ciclo noite/dia. Uma região hipotalâmica chamada núcleo supraquiásmico (**NSQ**) detecta variações na luminosidade e, por exemplo, queda na luminosidade induz a produção de melatonina pela glândula pineal (uma glândula situada acima do quarto ventrículo), e leva ao sono. De outra forma, aumento na luminosidade reduz as taxas de melatonina, levando ao estado de vigília. Em outro exemplo, o relógio do fígado promove a gliconeogênese e glicogenólise durante o período de sono/jejum, enquanto que promove a síntese de colesterol e glicogênio durante o período despertar/alimentação.

Bom funcionamento de relógios periféricos mantém processos metabólicos em sincronia com o ambiente, o que é fundamental para manter a saúde do organismo. Tecidos diferentes apresentam distintas propriedades controladas pelo relógio biológico. Assim, ablação do relógio em certos tecidos irá causar efeitos opostos sobre a função metabólica, como pode ser verificado através de modificações em diferentes momentos do ciclo e sob diferentes condições nutricionais. Envelhecimento, dieta e perturbações ambientais tais como o trabalho por turnos também podem afetar a integração dos sistemas circadianos e metabólicos (BASS; TAKAHASHI, 2010).

2.3.1 Regulação Circadiana e Obesidade

A obesidade é considerada hoje um importante problema de saúde na sociedade moderna e uma das principais causas evitáveis de morte em todo o

mundo. Reduz a expectativa de vida pelo aumento das taxas de doença de coração, Diabetes Mellitus tipo II (DM2), distúrbios do sono e câncer. Recentemente, novos fatores foram identificados como possíveis causas da obesidade e DM2. Dentre eles, destacam-se os distúrbios circadianos.

Num estudo realizado em 2000, Vioque e colaboradores mostraram uma correlação negativa entre duração de sono e obesidade. Os autores verificaram que um tempo de sono igual ou inferior a 6 horas por dia aumentava o risco de obesidade. Mesmo controlando-se as variáveis de idade, gênero e outros fatores, o grupo que dormia 6 horas tinha um IMC maior do que o grupo que dormia 9 horas ($27,7 \text{ kg/m}^2$ - Grupo 6h/dia vs. $24,9 \text{ kg/m}^2$ - Grupo 9h/dia) (VIOQUE *et al.*, 2000). Porém outro estudo, realizado com 1.024 adultos, verificou que existia uma relação entre o sono e o IMC no formato de "U" invertido, sugerindo que tanto o excesso como a falta do sono poderiam influenciar o estado nutricional (TAHERI *et al.*, 2004).

Os ritmos circadianos são controlados, direta ou indiretamente, através de fatores que ativam a transcrição de genes. O gene "*circadian locomotor output cycles protein kaput* (CLOCK)", e o "*brain and muscle arilhydrocarbon receptor translocador nuclear* (ARNT)-like protein-1 (BMAL1)" atuam na regulação da expressão de múltiplos outros genes. Por outro lado *Period* (Per)1, *Per2* e *Cryptochrome* (Cry)1 e *Cry2* inibem a atividade CLOCK-BMAL formando um sistema de feed-back e ajustando o ritmo circadiano através da regulação da expressão de múltiplos outros genes por eles controlados (PEREIRA, 2009). Tahira e colaboradores apontam para diferenças na expressão desses genes em pacientes obesos, quando comparados com controles não obesos (TAHIRA *et al.*, 2011).

Estudos em humanos demonstraram que distúrbios na regulação dos relógios biológicos central e periférico pela perda de sono, podem levar a uma diminuição na sensibilidade à insulina e aumento do risco de obesidade e diabetes mellitus (SPIEGEL *et al.*, 2005), uma vez que a mudança de turno de trabalho, a longo prazo, tem sido associada com dislipidemia e aumento do risco de diabetes e doenças cardiovasculares (KNUTSSON, 2003). Também tem sido demonstrado que a perda de sono aumenta o índice de massa corporal (IMC), aumenta os níveis de grelina e diminui os níveis de leptina nos seres humanos (TAHERI *et al.*, 2004).

Um estudo de Boden (BODEN *et al.*, 1999) demonstrou que indivíduos saudáveis tinham ciclo de 24 horas bem definido para a secreção de insulina, com os níveis plasmáticos de insulina aumentando no início da manhã e declinando à

noite. Por outro lado, parentes de primeiro grau de pacientes com DM2 tiveram ciclos mais curtos de secreção de insulina. Assim, as mudanças dos ritmos circadianos de hormônios podem preceder ou serem marcadores para doenças metabólicas. Recentemente foi demonstrado em ratos que a dieta rica em gordura atrapalha os ritmos circadianos de secreção de insulina (VIEIRA *et al*, 2012).

Além disso, durante a obesidade as células do tecido adiposo desempenham um papel importante na regulação do metabolismo do corpo inteiro. No estado de obesidade os adipócitos aumentam seu tamanho e capacidade de secretar adipocinas e outros fatores que podem modular o apetite, gasto energético, a secreção hormonal e a sensibilidade à insulina (FANTUZZI, 2005). Do mesmo modo, a maioria dos indivíduos obesos têm elevadas taxas circulantes de marcadores inflamatórios e/ou trombóticos, como a Proteína C-Reativa, o Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), a Interleucina-6, e o inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1), ou níveis reduzidos de moléculas de antiinflamatórios, tais como a adiponectina (ELEONORE, 2010). É interessante notar que os ritmos circadianos de adipocinas, leptina e adiponectina se mostraram atenuados em humanos obesos (YILDIZ *et al*, 2004).

2.4 A CIRURGIA BARIÁTRICA

Diferentes métodos e modelos experimentais indicam a importância do trato digestivo no controle do metabolismo energético corporal, seja por meio da absorção de nutrientes, seja por meio da secreção e sinalização hormonal (Rodrigues, 2012). Programas de intervenção no estilo de vida e farmacoterapia nem sempre conseguem manter, em longo prazo, a perda de peso (em particular na obesidade severa), enquanto que a cirurgia bariátrica pode manter essa perda, e está associada com uma redução significativa na mortalidade (ANDERSON *et al*, 2006). Os procedimentos visando à perda de peso corporal, inicialmente buscavam seus resultados na modulação da absorção alimentar e foram chamados disabsortivos. Posteriormente visaram, também, diminuição da ingestão de alimentos, sendo chamados restritivos (RODRIGUES, 2012). Um esquema das principais técnicas de cirurgia bariátrica é apresentado na figura 1.

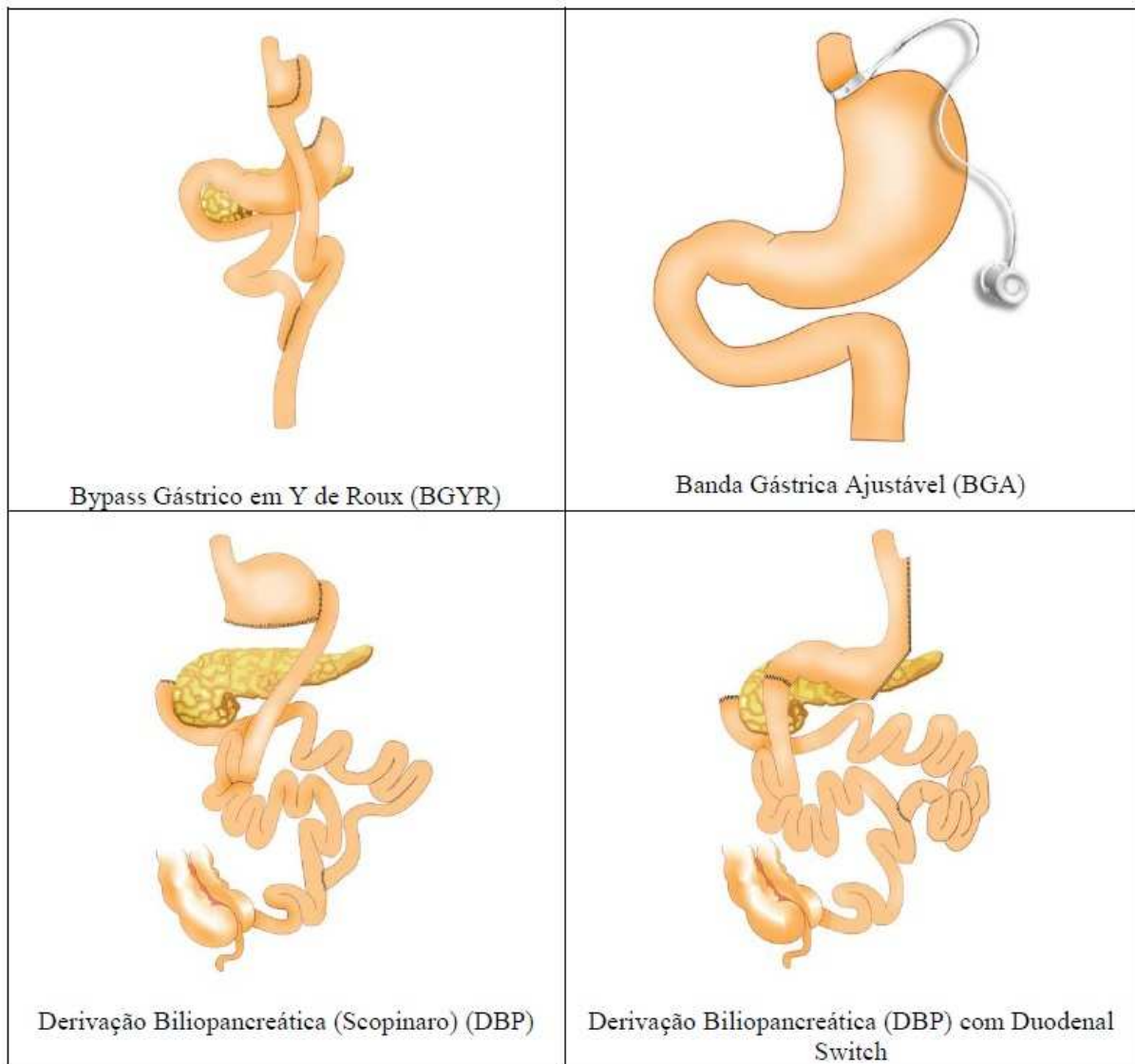


Figura 1: Técnicas mais realizadas de Cirurgia Bariátrica
 Fonte: RODRIGUES, 2012

As diversas técnicas de cirurgias bariátricas apresentam resultados consistentes no que se refere à perda de peso em pacientes obesos. Não obstante, possuem um grande potencial para melhorar ou corrigir distúrbios metabólicos associados à obesidade (AHN *et al*, 2010). O desvio do trânsito alimentar das regiões proximais do intestino, em conjunto com um estímulo alimentar mais intenso em regiões distais do intestino, tem mostrado resultados consistentes quanto à correção do diabetes e comorbidades (WILLIAMS *et al*, 2012).

Santoro e colaboradores (2003) propuseram um tratamento para síndrome metabólica denominado adaptação digestiva. Esse tratamento consiste de uma adequação do tamanho da câmara gástrica através da gastrectomia vertical (SANTORO *et al*, 2003). A evolução da técnica de adaptação digestiva, levou

Santoro a descrever uma modalidade cirúrgica aos moldes da técnica operatória Derivação Biliopancreática (DBP) com *duodenal switch*, denominada recentemente como *Duodenal Switch* Parcial (DSP), pois diminui consideravelmente o fluxo alimentar pelo duodeno (RODRIGUES, 2012).

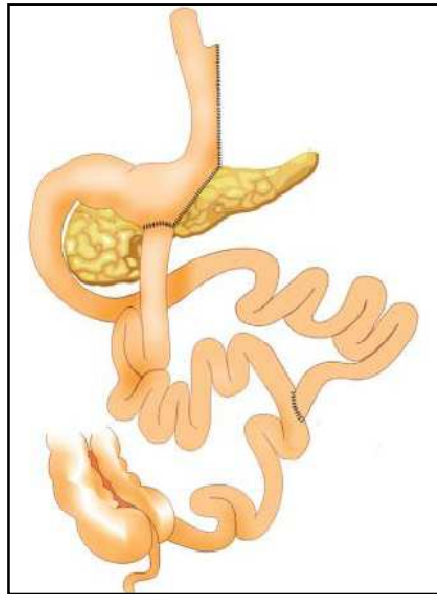


Figura 2: Cirurgia de Adaptação Digestiva com *Duodenal Switch* Parcial
Fonte: RODRIGUES, 2012

2.4.1 Impactos da Cirurgia Bariátrica sobre Hormônios e Adipocinas

Mesmo a cirurgia bariátrica conseguindo consistentes resultados na perda de peso, alguns indivíduos obesos têm uma recuperação de peso após a cirurgia. O mecanismo que explica a recuperação do peso é ainda desconhecido (DEYLGAT *et al*, 2012). Curiosamente, indivíduos obesos que tiveram distúrbios no ritmo circadiano devido à mudança de turno de trabalho exibiram maior ganho de peso que trabalhadores que não tiveram mudança de turno, apontando para mecanismos intrínsecos, que não poderiam ser corrigidos através de cirurgia bariátrica (KETCHUM; MORTON, 2007).

Num estudo de Mingrone e colaboradores (2009), 10 sujeitos com obesidade mórbida, cinco com tolerância normal à glicose (TNG) e cinco com diabetes tipo 2, foram estudados antes da cirurgia bariátrica e 2 semanas após DBP. Todos os participantes permaneceram 24 h (a partir das 08:00 horas) em enfermaria. Durante este período, quatro refeições foram administrados. A ingestão energética diária total

foi distribuída da seguinte forma: 13,4% foi tomado no café da manhã (9:00 horas), 36% entre 12:00-13:00 horas, 16,4% como um lanche da tarde (entre 16:00 e 16:30 horas) e 34,2% no jantar (entre 19:00 e 20:00 horas). A composição da dieta média foi de 16,9% de proteína, 34,6% de gordura e 48,5% de carboidratos. As amostras de sangue foram obtidas a partir de um cateter venoso central, a cada hora. Como resultado observou-se que o efeito da DBP no padrão de 24 h das incretinas diferiu entre indivíduos com TNG e pacientes diabéticos. A insuficiência na secreção GLP-1 foi revertida na TNG e não pode ser superada nos pacientes com diabetes. Por outro lado, a secreção de GIP foi reduzida no pós operatório apenas em pacientes diabéticos (MINGRONE *et al*, 2009), demonstrando que os achados são controversos e sofrem influência de fatores relacionados ao paciente.

Outro estudo com 10 pacientes diabéticos obesos submetidos à DBP estudados antes e após teste de tolerância oral à glicose mostraram cirurgia bariátrica produz resultados controversos. Guidone e colaboradores demonstraram que uma semana após a DBP, leptina e GIP em jejum diminuíram significativamente, enquanto que o GLP-1 em jejum aumentou significativamente e a adiponectina não se alterou. Quatro semanas após a DBP, insulina e peptídeo-C, no plasma em jejum, diminuíram significativamente; GIP e GLP-1 não se alteraram. A AUC de insulina, peptídeo-C, e GIP diminuiu após 1 semana de DBP, mas o decréscimo adicional às 4 semanas não foi estatisticamente significativo. Em contraste, a AUC do GLP-1 aumentou significativamente uma semana após a cirurgia, mas em 4 semanas, o aumento não foi significativo (GUIDONE *et al*, 2006).

Adams e colaboradores comparam a eficiência da derivação gástrica em Y de Roux em pacientes obesos e observaram que os níveis de insulina, foram significativamente menores no grupo submetido à cirurgia (ADMS *et al*, 2010).

Estudos com GLP-1 demonstraram aumento significativo da AUC para coletas em jejum, 30, 60, 90 e 120 minutos após dieta padrão, comparando o pré-operatório e o 3º mês do após entero-omentectomia adaptativa (MILLÉO, 2009) e que as concentrações plasmáticas dessa incretina se elevam após derivação jejuno-ileal (VALVERDE *et al*, 2005).

Em pesquisa realizada com pacientes que foram submetidos à bypass jejunoileal, há aproximadamente vinte anos, para se estudar os hormônios gastrointestinais e esvaziamento gástrico Naslund e colaboradores observaram que, em geral, o GLP-1 estava elevado após a cirurgia quando comparados com

indivíduos obesos não operados. Porém, este aumento não foi significativo na comparação com o grupo controle não operado (NASLUND *et al*, 1997).

Leonetti e colaboradores avaliaram os níveis de grelina em 10 pacientes obesos submetidos à banda gástrica ajustável laparoscópica (*laparoscopic adjustable silicone gastric banding* - LASGB), 11 submetidos à *bypass* gástrico em Y de Roux laparoscópica (*laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass* - LRYGBP), 8 submetidos à gastrectomia total e oito indivíduos não obesos. Os pacientes foram hospitalizados e receberam alimentação controlada (café da manhã e almoço). Amostras foram obtidas a partir de cateter intra venoso, nos horários 09:00 h, 10:00 h, 11:00 h, 13:00 h, 14:00 h e 15:00 h. Seus resultados demonstraram que os indivíduos submetidos à LRYGBP apresentaram níveis menores que os pacientes submetidos à LASGB e que os submetidos à gastrectomia total apresentaram níveis extremamente baixos. Observaram, ainda, que os níveis de grelina não apresentaram qualquer alteração relacionada à alimentação (LEONETTI *et al*, 2003). Corroborando com o que foi citado, outro estudo demonstrou que a gastrectomia reduz as concentrações plasmáticas de grelina em 65% (ARIYASU, *et al*, 2001).

Em outro estudo, dezessete sujeitos haviam alcançado perda de peso após cirurgia laparoscópica de banda gástrica ajustável foram separados em dois grupos: um com restrição ótima banda e outro com restrição reduzida. Refeições padronizadas foram consumidas às 09:00 h, após 14 h de jejum. Níveis plasmáticos de insulina, grelina e leptina foram mensurados. Os pacientes apresentaram níveis maiores de grelina e menores de insulina e leptina quando comparadas as AUC com controles. Os padrões de insulina, grelina e leptina não sofreram alterações comparando os níveis de restrição ótima e reduzida (DIXON *et al*, 2005). Já Cummings e Shannon demonstraram que os efeitos de RYGB na concentração da grelina foram inconsistentes (CUMMINGS; SHANNON, 2003).

3 PACIENTES E MÉTODO

3.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Este estudo foi conduzido como um ensaio clínico, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), conforme Anexo 1. Não houve conflito de interesses para a realização do estudo. Todos os participantes da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, o qual explicou detalhadamente o método, a natureza, o objetivo e os riscos do procedimento a ser realizado, e que pode ser observado no Anexo 2.

O cirurgião responsável no presente estudo foi o Dr. Fábio Quirillo Milléo. O processamento das amostras, as determinações de Adiponectina e Leptina foram realizadas no Laboratório Multiusuário da UEPG. As dosagens de GIP, GLP-1, glucagon, grelina, insulina, PAI-1, peptideo-C, resistina e visfatina foram realizadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), em São Paulo.

3.2 O UNIVERSO DA PESQUISA

A pesquisa foi desenvolvida em Ponta Grossa, Paraná. A população estudada é composta por 6 (seis) pacientes obesos femininos, com índice de massa corporal (IMC) maior que 35 kg/m^2 e idades entre 20 e 38 anos, e 4 (quatro) indivíduos hígidos, femininos, não obesos, com IMC inferior a 25 kg/m^2 e idades entre 25 e 32 anos.

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão para os pacientes foram IMC maior que 35 kg/m^2 , indicação para cirurgia bariátrica e que tenham assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Como critérios de exclusão foram consideradas quaisquer condições que possam tornar o sujeito incapaz de completar o estudo;

atual ou anterior participação (em 6 meses) em outro estudo; estado de gravidez e/ou amamentação; histórico de hepatite B e C; HIV positivo; diagnóstico prévio de DM2; testes hepáticos com resultados 2 vezes maior que o limite superior normal; doença aguda grave em que as necessidades de recuperação sejam maiores que uma semana; distúrbios psiquiátricos e dependência de drogas ou álcool; indivíduo atualmente recebendo tratamento crônico com esteróides orais; tratamento com drogas imunossupressoras; trabalho noturno.

Os critérios de inclusão para os indivíduos não obesos foi IMC inferior a 25 kg/m² e boa saúde. Critério excludente para os controles foram os mesmos já citados para os pacientes.

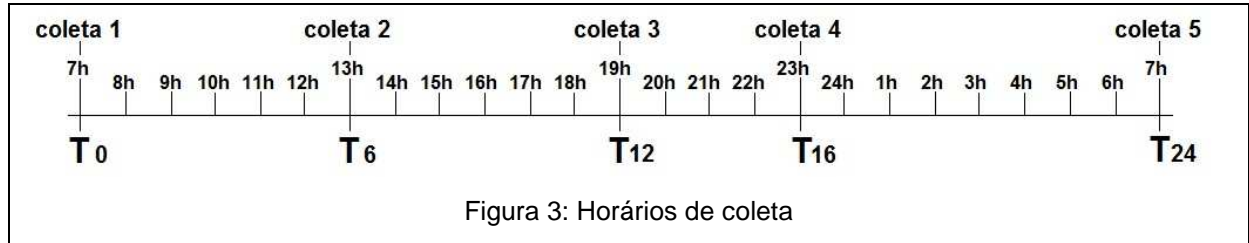
3.4 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

A cirurgia realizada neste estudo foi a gastrectomia vertical com bipartição intestinal, referida como Adaptação Digestiva com *Duodenal Switch* Parcial – DSP (RODRIGUES, 2012).

O cirurgião responsável, Dr. Fábio Quirillo Milleo utilizou-se da estrutura técnica do centro cirúrgico da Sociedade Beneficente São Camilo – Hospital Vicentino, em Ponta Grossa, no Paraná.

3.5 COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS

O plasma dos sujeitos da pesquisa foi coletado antes e 60 dias após cirurgia bariátrica, em momentos diferentes do dia: 7h, 13h, 19h, 23h e 7h do dia seguinte, compondo um período de 24 horas. A primeira coleta, realizada às 7 horas, foi considerada como tempo zero. A segunda coleta, realizada às 13 horas, foi considerada como tempo 6 horas (devido ocorrer seis horas após a primeira). A terceira coleta, realizada às 19 horas, foi considerada como tempo 12 horas. A quarta coleta, realizada às 23 horas, foi considerada como tempo 16 horas e, por fim a última coleta, realizada às 7 horas do dia seguinte, foi considerada como tempo 24 horas, conforme elucida a figura 2.



Os sujeitos da pesquisa foram orientados a manter suas rotinas o mais próximo possível do normal, inclusive quanto a horários de refeições, dormir e acordar. Também foi solicitado que mantivessem uma alimentação normal, sem nenhum tipo de dieta ou restrição alimentar.

Para obtenção das amostras, o pesquisador compareceu à residência ou ao local de trabalho de cada sujeito da pesquisa (dependendo do horário e da disponibilidade dos participantes) e realizou punção venosa. A cada coleta, foram obtidos 10 ml de sangue total utilizando seringa descartável de 10 ml e agulha descartável de 25 x 0,7 mm. A amostra obtida foi acondicionada em tubos a vácuo para 5 ml de amostra, contendo K₃EDTA (sal trissódico de etilenodiaminotetracético), previamente identificados. Após homogeneização, as amostras foram acondicionadas para transporte em caixa térmica contendo gelo reciclável e armazenadas de 2 a 8°C por, no máximo, 24 horas e então processadas.

O processamento das amostras consistiu de:

- 1- centrifugar a amostra por 5 minutos, a 3.500 rpm;
- 2- obter plasma por aspiração com pipeta automática, acondicionando o plasma em três eppendorfs de 2 ml cada e identificando o paciente, e a coleta, conforme o exemplo: "P1C3", para terceira coleta do primeiro paciente.
- 3- congelar eppendorfs com plasma a -20°C e, posteriormente, a -80°C.

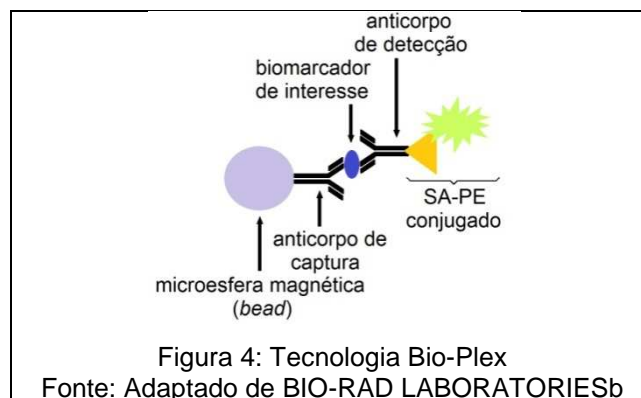
3.6 QUANTIFICAÇÃO DE HORMÔNIOS E ADIPOCINAS

O estudo foi viabilizado economicamente pelo INSPAM (Instituto de Pesquisa Médicas Aplicadas), de Ponta Grossa, Paraná, Brasil e pelo *Diabetes and Obesity Laboratory*, IDIBAPS, CIBERDEM, Barcelona, Espanha.

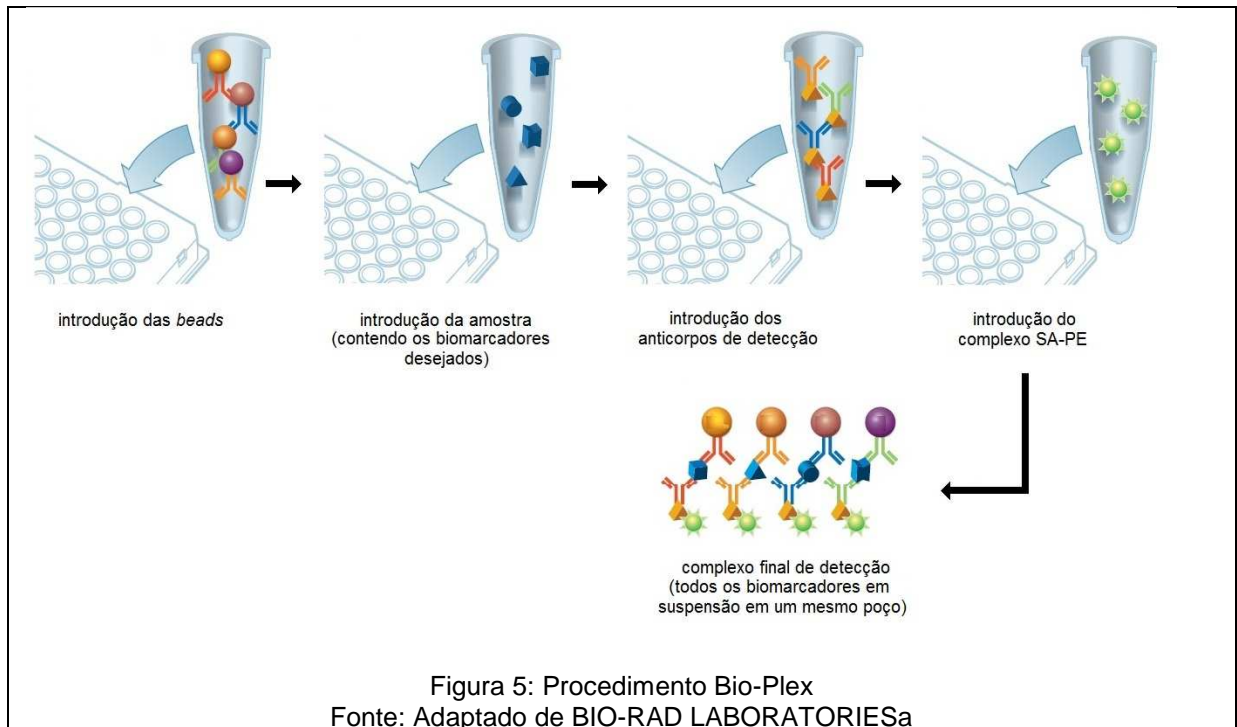
A dosagem de Adiponectina utilizou o *Mercodia Human Adiponectin ELISA* (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e para Leptina foi utilizado *Mercodia Human Leptin ELISA*.

Os níveis plasmáticos de GIP, GLP-1, Grelina, Glucagon, Insulina, PAI-1, Peptídeo-C, Resistina, Visfatina foram medidos através de Luminex *Bio-Plex Pro Human Diabetes 10-Plex Assay* (Bio-rad).

As análises com tecnologia Bio-Plex são essencialmente imunoensaios formatados em microesferas magnéticas (referidas como “*beads*”). O princípio do ensaio é semelhante ao de um ELISA sanduíche. Anticorpos de captura dirigidos contra o biomarcador desejado são covalentemente acoplados às esferas magnéticas. Os anticorpos acoplados às *beads* reagem com o biomarcador de interesse. Um anticorpo de detecção é adicionado para criar uma estrutura sanduíche. O complexo de detecção final é formado juntamente com o conjugado *streptavidin-phycoerythrin* (SA-PE), como mostra a figura 4.

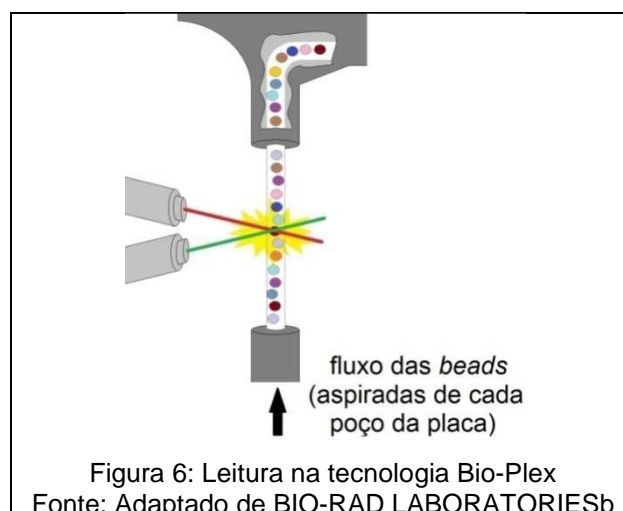


Uma vez que a tecnologia Bio-Plex permite reunir diferentes *beads* em uma suspensão multiplex (*kit* comercial já pronto ou criado de acordo com as necessidades da pesquisa), através de um único procedimento se pode determinar vários biomarcadores ao mesmo tempo, conforme mostra a figura 5.



O sistema de suspensão Bio-Plex é baseado em três elementos principais:

- 1- fluorescência marcando as *beads*, cada uma com uma faixa espectral, para permitir a discriminação de testes individuais dentro de uma suspensão multiplex, o que permite a detecção simultânea de inúmeras moléculas em um único poço da placa e, conseqüentemente, utilizando pequeno volume de amostra;
- 2- tecnologia baseada no citômetro de fluxo com dois *lasers* (vermelho e verde) associados a uma porção óptica capaz de medir a fluorescência das moléculas ligadas à superfície das *beads*, de acordo com a figura 6. O *laser* vermelho classifica as *beads* de acordo com o biomarcador, enquanto que o *laser* verde quantifica a fluorescência. A *phycoerythrin* serve como um indicador de fluorescência.



3- e um sistema Bio-Plex de leitura ou sistema de leitura tipo Luminex, capaz de gerenciar eficazmente os dados de fluorescência (BIO-RAD LABORATORIESb).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

O programa computacional GraphPad Prism 5 foi utilizado para analisar os dados bem como confeccionar os gráficos. De todos os biomarcadores de interesse, foi calculada a área sobre a curva (*area under curve* - AUC) para os pacientes, em cada momento de coleta (pré e pós cirurgia bariátrica), obtida a média (com intervalos de 95 % de confiança) e o desvio padrão. Também foi obtida a média e o desvio padrão da AUC para os indivíduos não obesos. Na sequência foram confeccionados gráficos demonstrando a AUC para os indivíduos não obeso, obesos pré e obesos pós cirurgia bariátrica. Anova de uma via e *Tukey's Multiple Comparison Test* como pós-teste foram realizados, com um nível de significância $p < 0,05$. Além disso, *Test t* foi utilizado para comparar a média da concentração sérica de cada biomarcador no ponto de coleta T_0 , bem como as médias das AUCs.

4 RESULTADOS

Para as tabelas e gráficos a seguir o termo “pré” utilizado refere-se à primeira etapa de coletas (antes da DSP). O termo “pós” diz respeito à segunda etapa de coletas (60 dias após a cirurgia bariátrica). Os indivíduos não obesos são identificados através de “no x” e os indivíduos obesos através de “ob x”.

4.1 PACIENTES

As tabelas 1 e 2, a seguir, apresentam as características dos sujeitos da pesquisa.

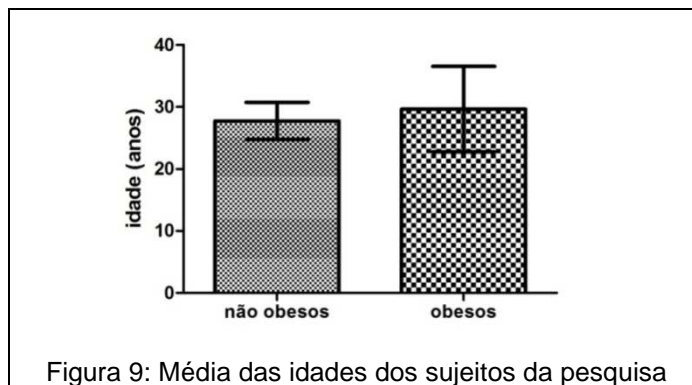
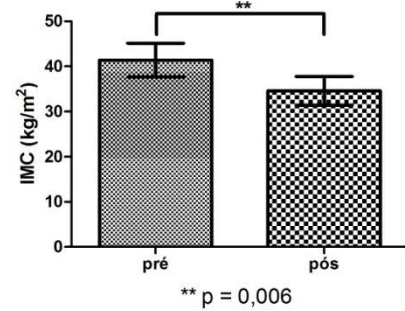
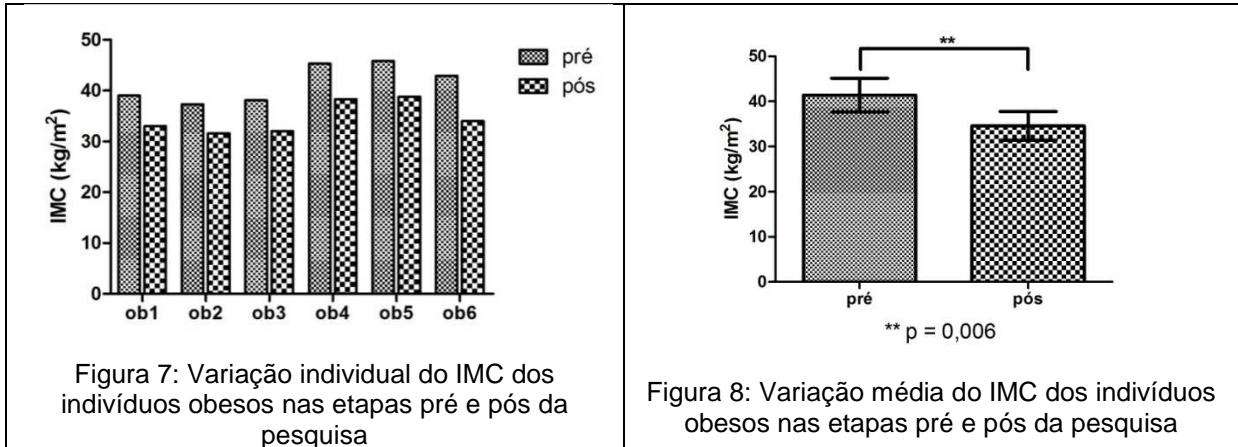
Tabela 1: Idade, peso, altura e IMC dos indivíduos não obesos

	Idade (anos)	peso (kg)	altura (m)	IMC (kg/m²)
no1	32	60	1,68	21,3
no2	27	45	1,60	17,6
no3	27	49	1,63	18,4
no4	25	45	1,62	17,1

Tabela 2: Idade, peso, altura e IMC dos indivíduos obesos nas etapas pré e pós da pesquisa

	Pré				pós		
	Idade (anos)	peso (kg)	altura (m)	IMC (kg/m²)	peso (kg)	altura (m)	IMC (kg/m²)
ob1	33	110	1,68	39	93	1,68	33
ob2	38	93	1,58	37,3	79	1,58	31,6
ob3	20	100	1,62	38,1	84	1,62	32,0
ob4	30	116	1,6	45,3	98	1,6	38,3
ob5	23	115,8	1,59	45,8	98	1,59	38,8
ob6	34	107	1,58	42,9	85	1,58	34,0

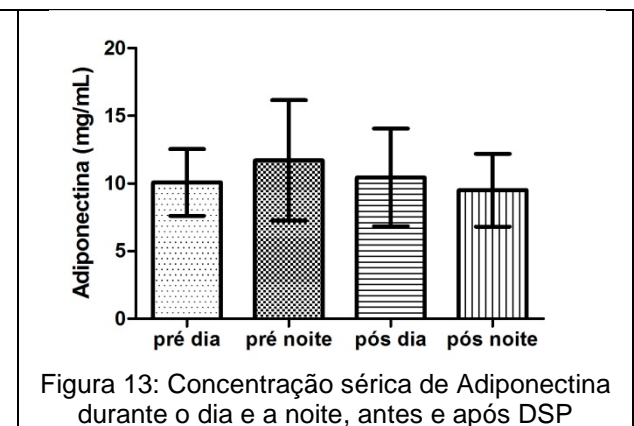
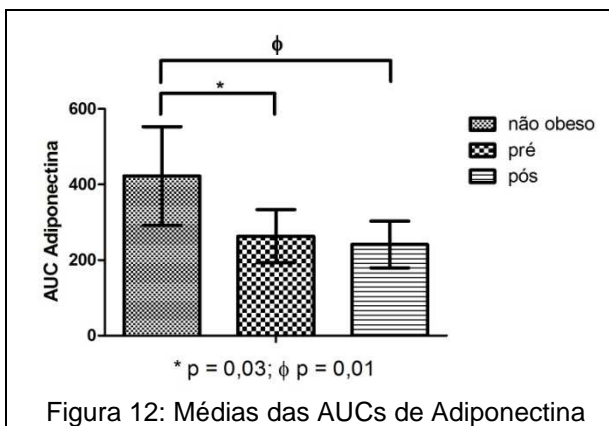
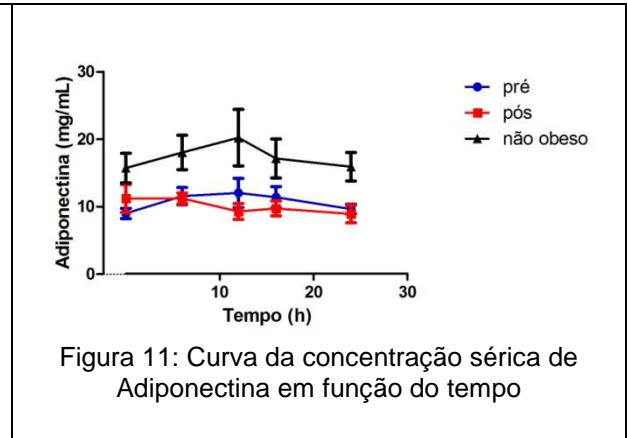
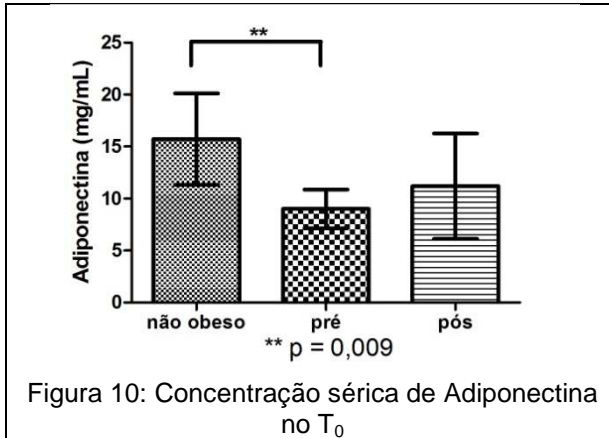
As figuras 7 e 8, que seguem, apresentam a variação do IMC dos indivíduos obesos antes e após a cirurgia bariátrica. Já a figura 9 apresenta a média das idades dos sujeitos da pesquisa.



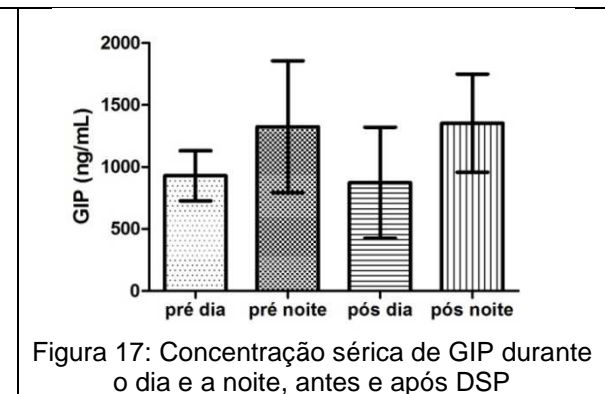
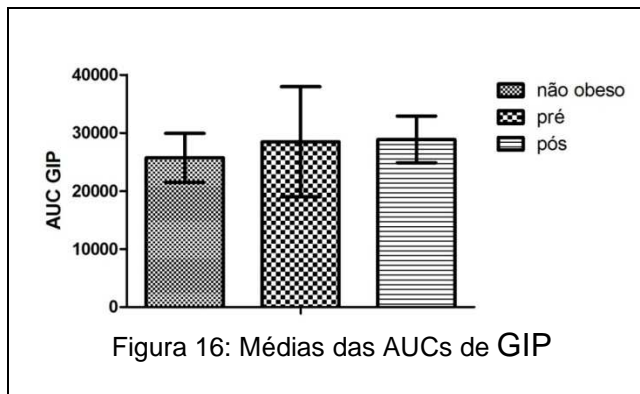
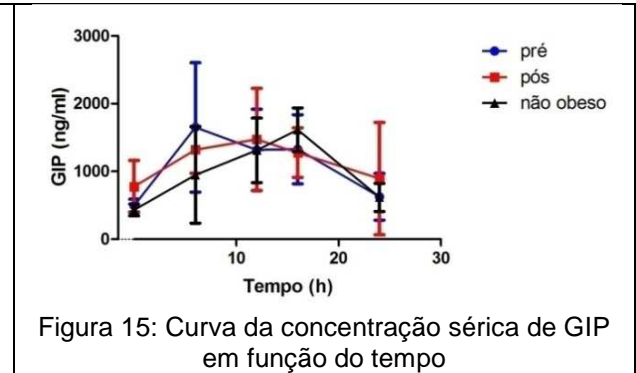
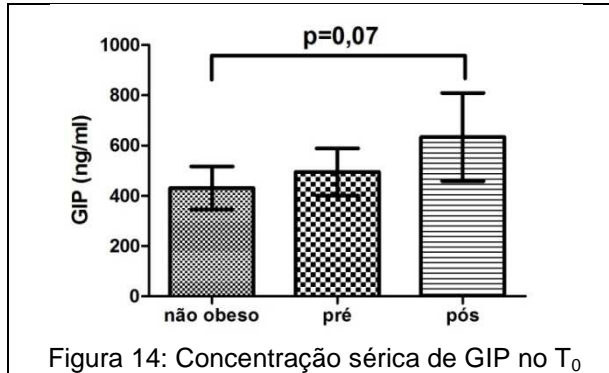
O IMC dos indivíduos obesos antes da DSP foi $41,40 (\pm 3,749)$ kg/m^2 e após cirurgia bariátrica foi $34,62 (\pm 3,163)$ kg/m^2 , sendo a variação significativa ($p = 0,006$). A média das idades dos sujeitos não obesos foi de $27,75$ anos ($\pm 2,986$) e a dos indivíduos obesos foi de $29,67$ anos ($\pm 6,890$), não apresentando diferença estatística.

4.2 HORMÔNIOS E ADIPOCINAS

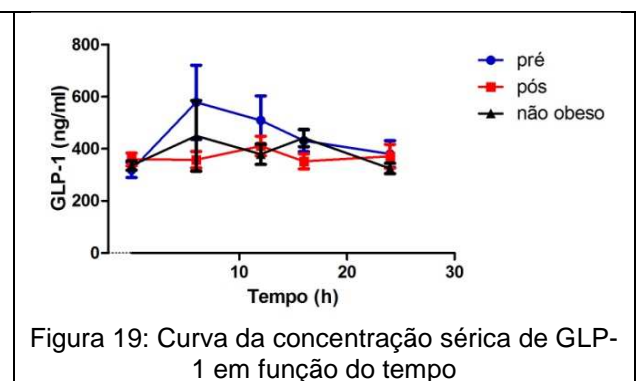
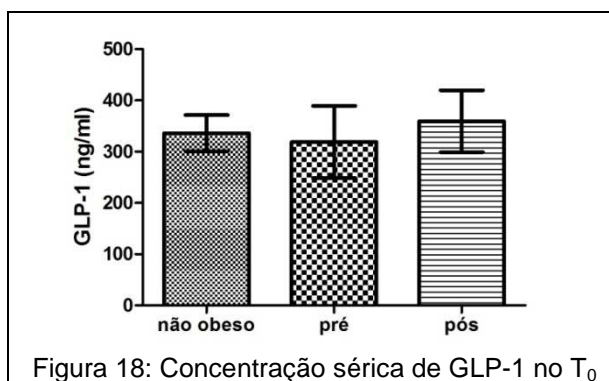
Para cada hormônio e adipocina estudado serão apresentados: um gráfico comparando a concentração sérica do biomarcador no tempo T_0 para os indivíduos não obesos, obesos pré e obesos pós DSP; uma curva mostrando a concentração sérica do biomarcador em função do tempo; um gráfico comparando as médias da AUC do biomarcador para os indivíduos não obesos, obesos pré e pós DSP; e um gráfico mostrando a média das concentrações do biomarcador durante o dia (T_0 , T_6 , T_{24}) e durante a noite (T_{12} e T_{16}) nos momento pré e pós DSP. Também serão apresentadas as análises estatísticas desses dados.

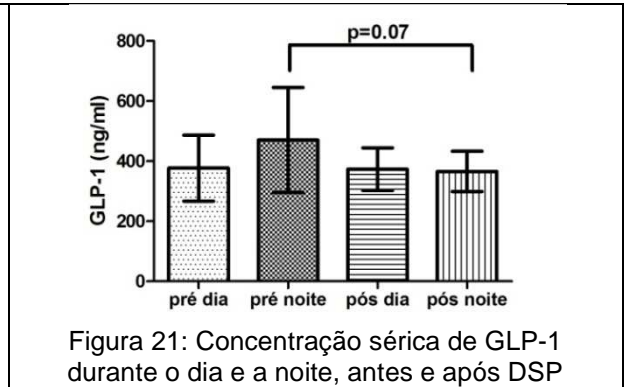
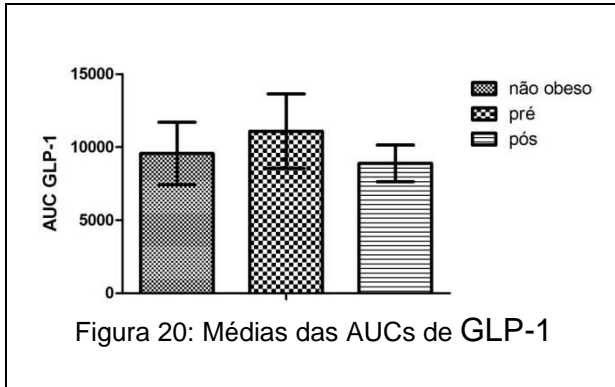


As concentrações de Adiponectina no T₀ foram 15,72 (\pm 4,390) mg/ml para os indivíduos não obesos, 9,000 (\pm 1,863) mg/ml para os obesos pré e 11,20 (\pm 5,061) mg/ml para obesos no pós-operatório, sendo significativa a diferença entre os não obesos e os obesos pré ($p=0,009$). A concentração sérica média de Adiponectina no pré-operatório foi 10,08 (\pm 2,467) mg/ml durante o dia e 11,71 (\pm 4,452) mg/ml durante a noite; e no pós foi 10,45 (\pm 3,616) mg/ml durante o dia e 9,500 (\pm 2,684) mg/ml durante a noite, não havendo diferença estatística. A média da AUC para Adiponectina dos indivíduos não obesos foi de 422,8 (\pm 130,5), dos pacientes pré foi 263,4 (\pm 70,36) e dos pacientes pós 241,3 (\pm 62,08). Houve diferença significativa entre a AUC dos indivíduos não obesos comparados com os pacientes pré ($p = 0,03$) e também comparado com os pacientes pós ($p = 0,01$). E não houve diferença significativa entre os pacientes pré e pós.

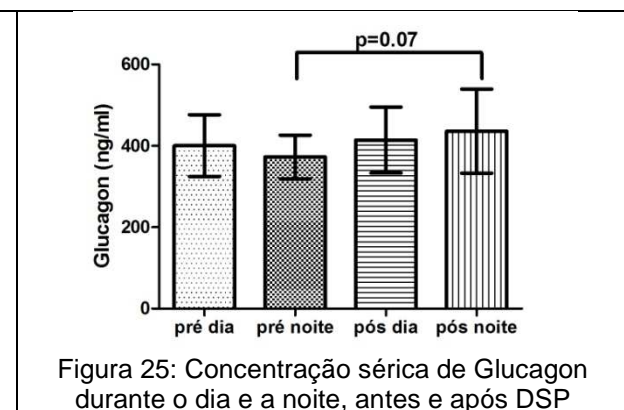
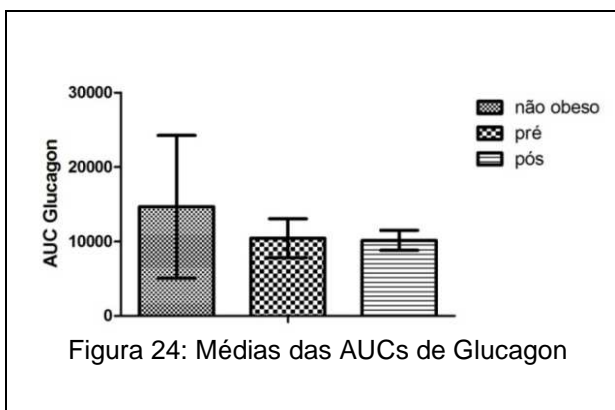
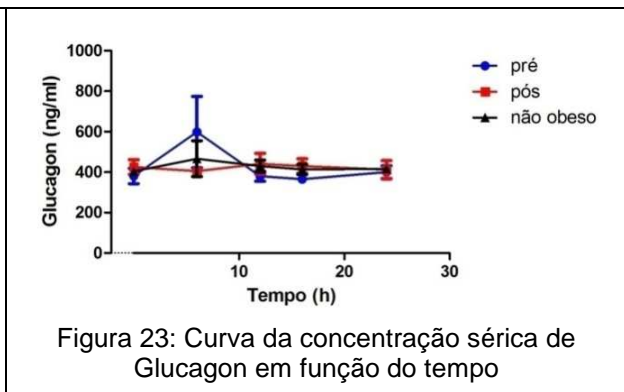
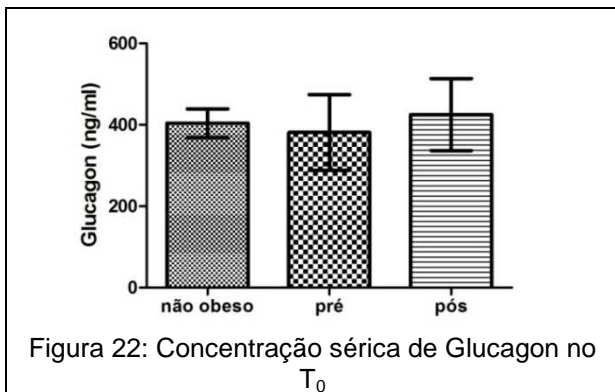


As concentrações de GIP no T₀ foram 431,5 (± 85,89) ng/ml para os indivíduos não obesos, 495,1 (± 93,95) ng/ml para os obesos pré DSP e 633,9 (± 175,3) ng/ml para obesos pós, havendo uma discreta diferença (p = 0,07) entre os não obesos e os obesos pós. A concentração sérica média de GIP no pré-operatório foi 928,9 (± 805,9) ng/ml durante o dia e 1324 (± 530,9) ng/ml durante a noite; e no pós foi 872,6 (± 447,4) ng/ml durante o dia e 1353 (± 396,0) ng/ml durante a noite, não havendo diferença estatística. A média da AUC para GIP dos indivíduos não obesos foi de 25702 (± 4224), dos pacientes pré foi 28468 (± 9488) e dos pacientes pós 28863 (± 4012), não havendo diferença significativa entre a AUC dos grupos estudados.

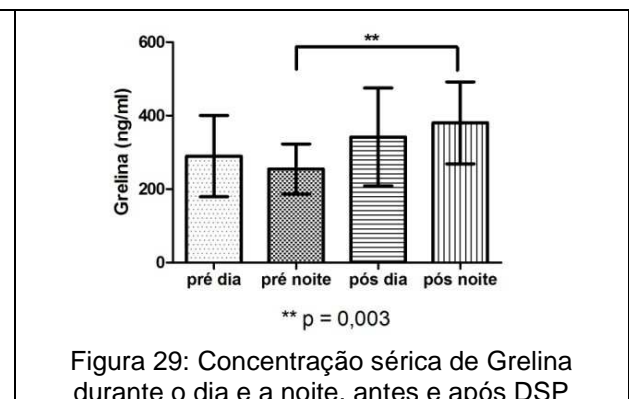
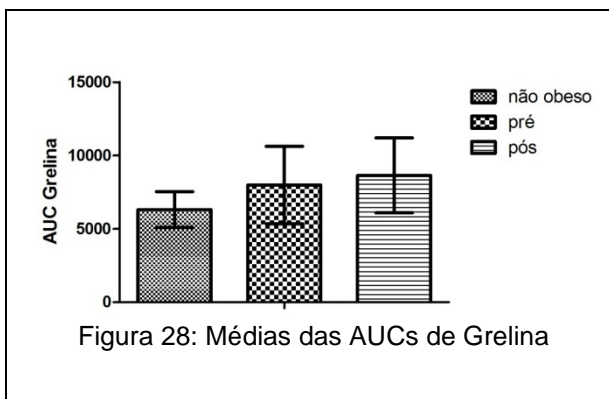
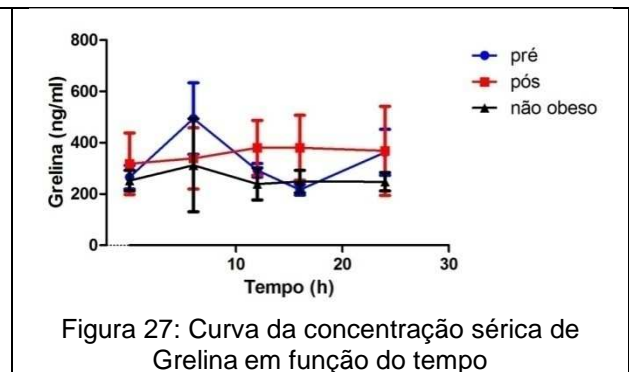
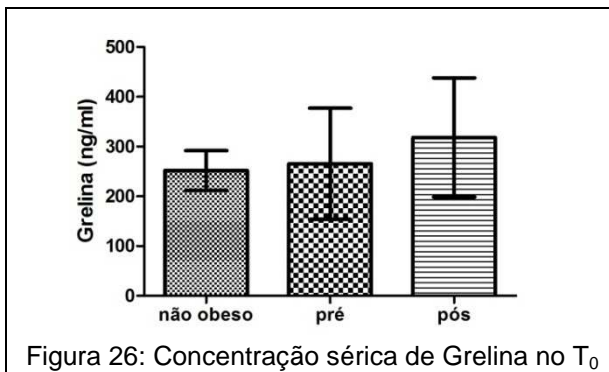




As concentrações de GLP-1 no T₀ foram 336,1 (± 35,37) ng/ml para os indivíduos não obesos, 318,9 (± 70,57) ng/ml para os obesos pré e 359,3 (± 60,31) ng/ml para obesos no pós DSP, não havendo diferença estatística. A concentração sérica média de GLP-1 no pré foi 376,9 (± 109,6) ng/ml durante o dia e 470,3 (± 174,6) ng/ml durante a noite; e no pós-operatório foi 373,3 (± 71,15) ng/ml durante o dia e 365,9 (± 67,01) ng/ml durante a noite, havendo uma discreta diferença (p = 0,07) entre os valores noite pré e pós cirurgia bariátrica. A média da AUC para GLP-1 dos indivíduos não obesos foi de 9556 (± 213,4), dos pacientes pré foi 11086 (± 2549) e dos pacientes pós 8884 (± 1247). Não houve diferença significativa entre a AUC dos grupos avaliados.

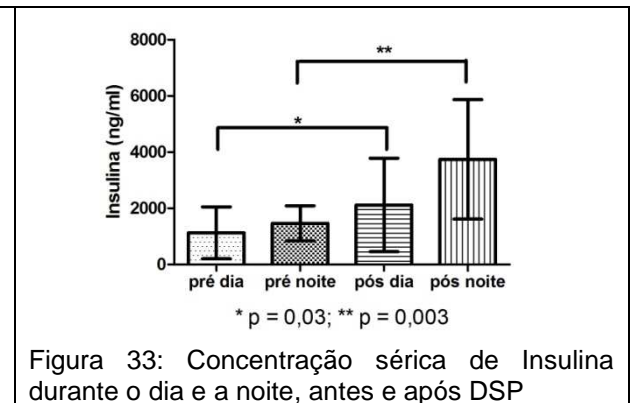
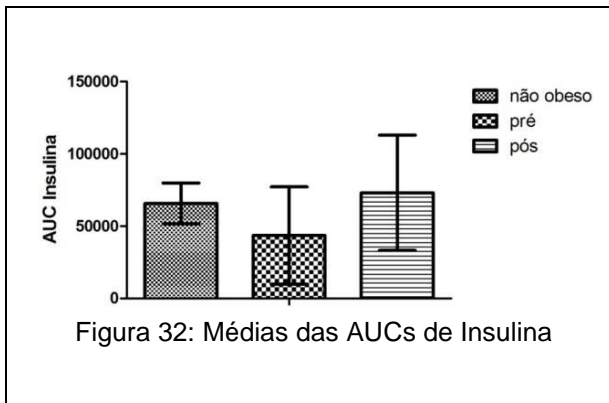
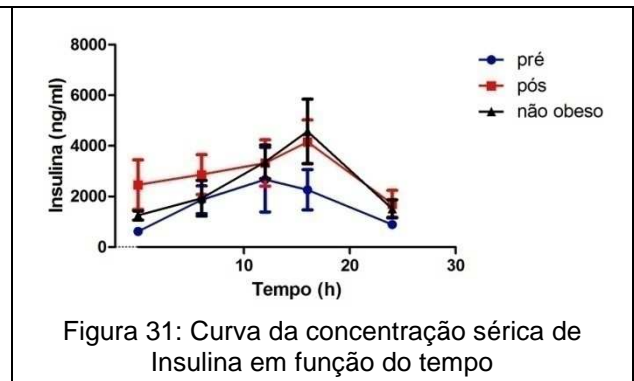
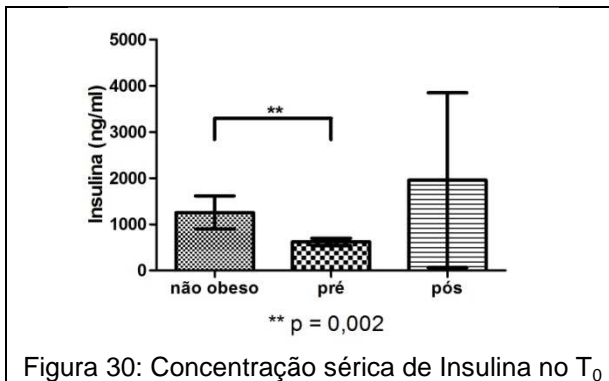


As concentrações de Glucagon no T₀ foram 404,0 (± 35,14) ng/ml para os indivíduos não obesos, 381,3 (± 93,12) ng/ml para os obesos no pré-operatório e 425,2 (± 88,44) ng/ml para obesos no pós, não havendo diferença estatística. A concentração sérica média de Glucagon no pré-operatório foi 400,4 (± 75,72) ng/ml durante o dia e 372,6 (± 53,85) ng/ml durante a noite; e no pós foi 414,2 (± 81,05) ng/ml durante o dia e 435,9 (± 103,1) ng/ml durante a noite, havendo uma discreta diferença (p = 0,07) entre os valores noite pré e pós DSP. A média da AUC para Glucagon dos indivíduos não obesos foi de 14654 (± 9584), dos pacientes pré foi 10428 (± 2618) e dos pacientes pós 10144 (±1336). Não houve diferença significativa entre a AUC dos grupos pesquisados.

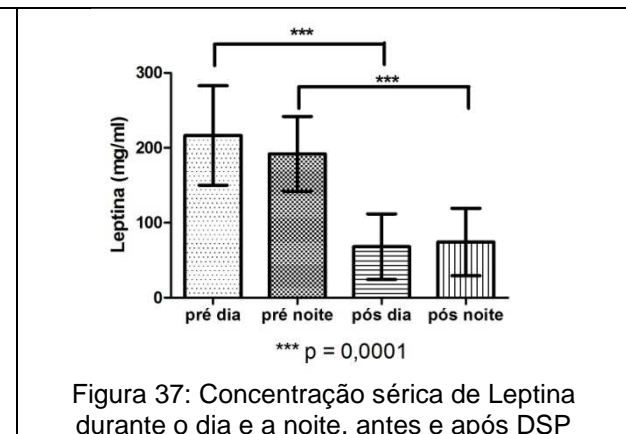
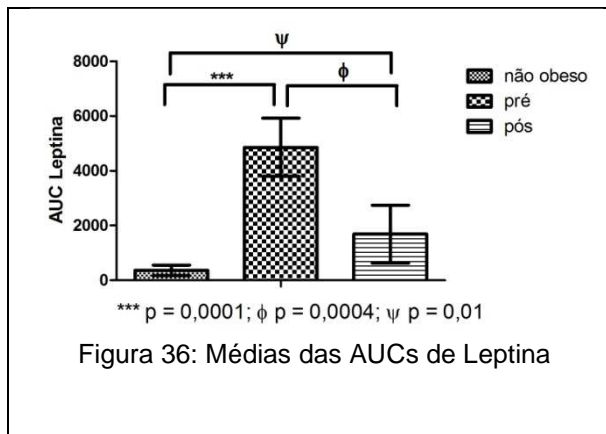
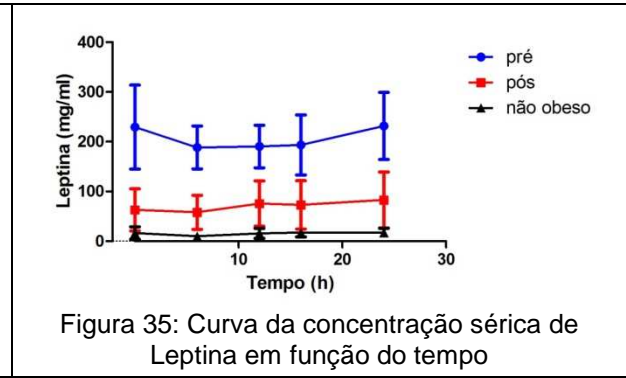
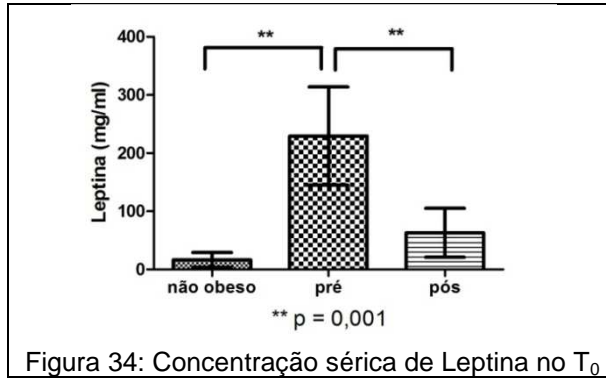


As concentrações de Grelina no T₀ foram 252,0 (± 39,92) ng/ml para os indivíduos não obesos, 265,6 (± 111,9) ng/ml para os obesos pré e 318,3 (± 119,9) ng/ml para obesos no pós DSP, não havendo diferença estatística. A concentração sérica média de Grelina no pré foi 289,7 (± 110,5) ng/ml durante o dia e 254,7 (± 67,82) ng/ml durante a noite; e no pós-operatório foi 341,9 (± 133,3) ng/ml durante o dia e 380,3 (± 111,6) ng/ml durante a noite, havendo diferença (p = 0,003) entre os valores noite pré e pós DSP. A média da AUC para Grelina dos indivíduos não obesos foi de 6310 (± 1228), dos pacientes pré foi 7979 (± 2637) e dos pacientes

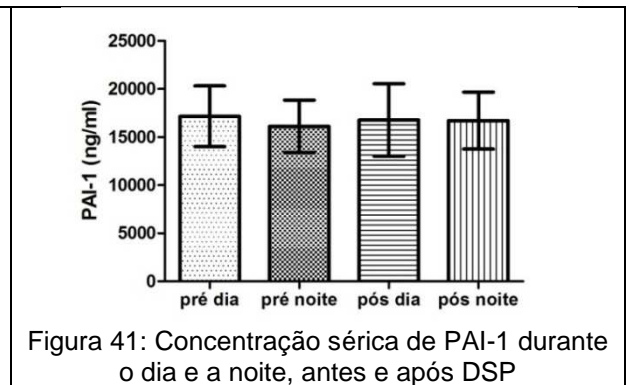
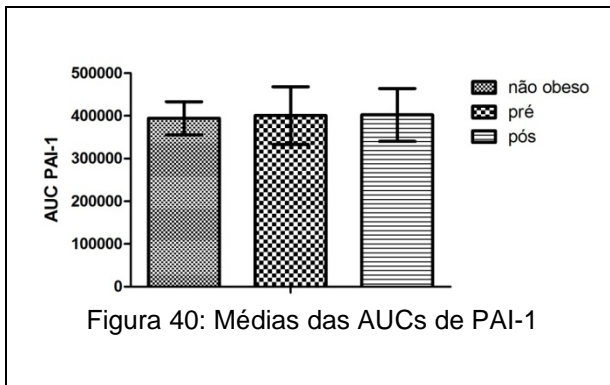
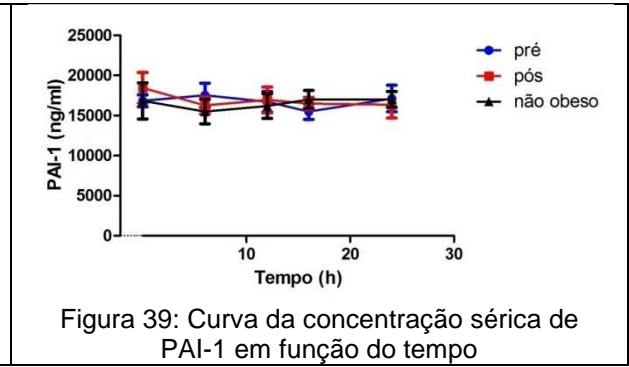
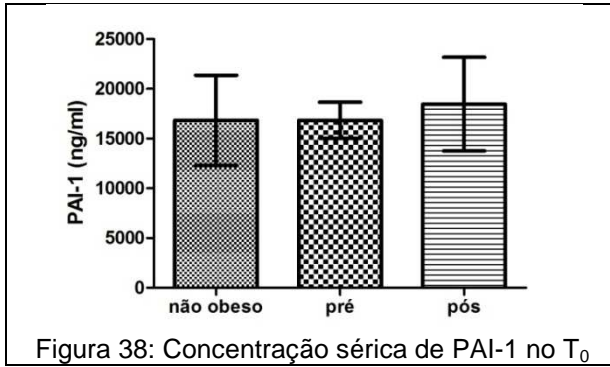
pós 8645 (\pm 2552), não havendo diferença significativa entre a AUC para não obesos, pacientes pré e pacientes pós.



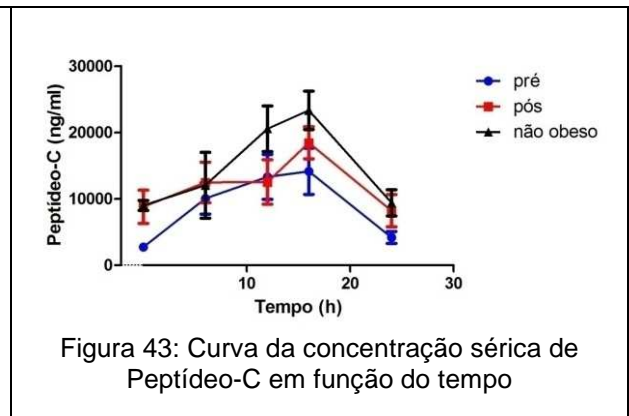
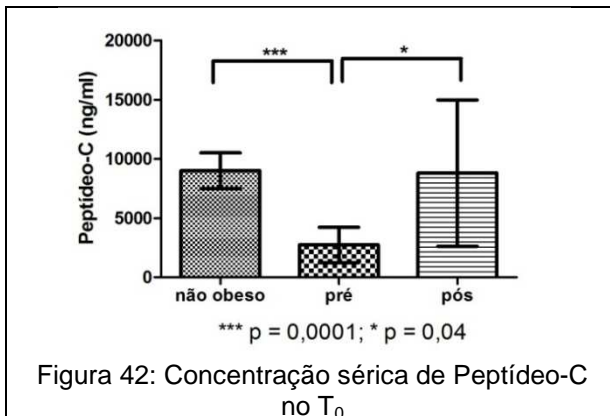
As concentrações de Insulina no T₀ foram 1253 (\pm 360,4) ng/ml para os indivíduos não obesos, 618,3 (\pm 78,53) ng/ml para os obesos no pré-operatório e 1714 (\pm 1726) ng/ml para obesos no pós, havendo diferença ($p = 0,002$) entre os não obesos e obesos pré. A concentração sérica média de Insulina no pré DSP foi 1127 (\pm 922,2) ng/ml durante o dia e 1466 (\pm 621,0) ng/ml durante a noite; e no pós foi 2120 (\pm 1661) ng/ml durante o dia e 3743 (\pm 2127) ng/ml durante a noite, havendo diferença ($p = 0,03$) entre os valores dia pré e pós e também entre os valores noite no pré e pós-operatório ($p = 0,003$). A média da AUC para Insulina dos indivíduos não obesos foi de 65700 (\pm 14055), dos pacientes pré foi 43579 (\pm 33660) e dos pacientes pós 73030 (\pm 39864). Não houve diferença significativa entre os obesos pré e pós e indivíduos não obesos.

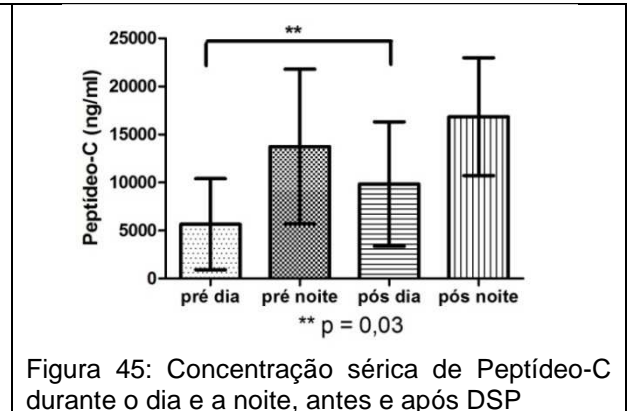
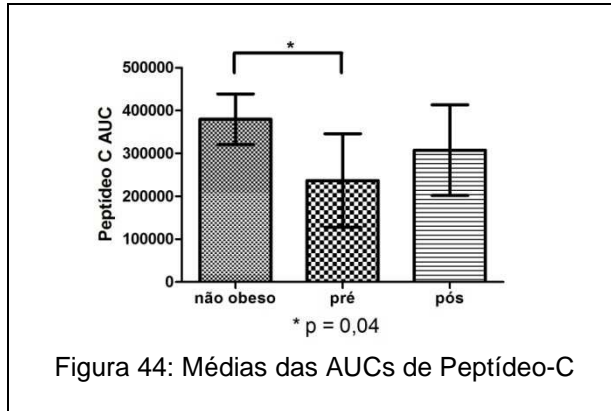


As concentrações de Leptina no T₀ foram 16,53 (\pm 12,59) mg/ml para os indivíduos não obesos, 229,4 (\pm 84,45) mg/ml para os obesos no pré DSP e 63,17 (\pm 42,10) mg/ml para obesos no pós, havendo diferença ($p = 0,001$) entre os não obesos e obesos pré, bem como entre os obesos no pré e pós-operatório ($p = 0,001$). A concentração sérica média de Leptina no pré-operatório foi 216,5 (\pm 66,29) mg/ml durante o dia e 192,0 (\pm 49,94) mg/ml durante a noite; e no pós foi 68,14 (\pm 43,78) ng/ml durante o dia e 74,39 (\pm 44,93) mg/ml durante a noite, havendo diferença ($p = 0,0001$) entre os valores dia no pré e pós-operatório ($p = 0,03$) e também entre os valores noite pré e pós ($p = 0,003$). A média da AUC para Leptina dos indivíduos não obesos foi de 364,6 (\pm 194,6), dos pacientes pré foi 4859 (\pm 1062) e dos pacientes pós 1688 (\pm 1058). Houve diferença ($p = 0,0001$) entre a AUC dos indivíduos não obesos comparados com os pacientes pré; entre os indivíduos pré e pós ($p = 0,0004$) e entre os pacientes não obesos e pós DSP ($p = 0,01$).

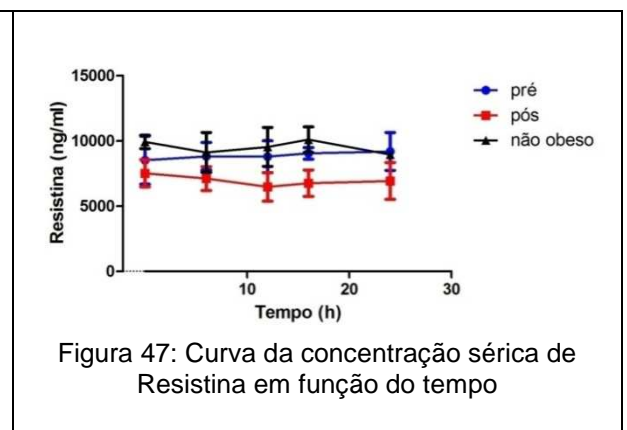
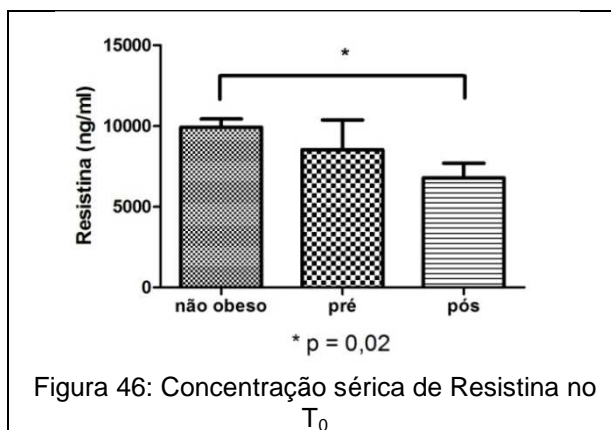


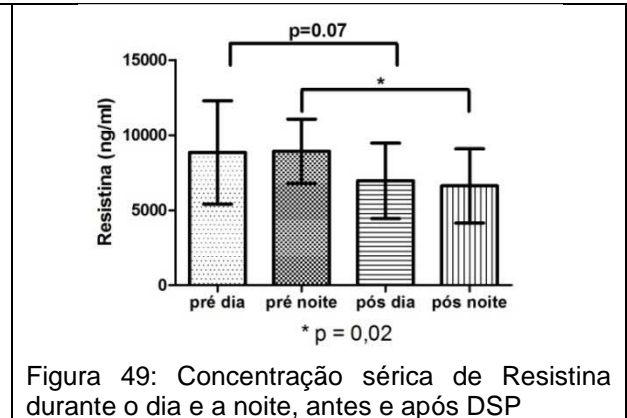
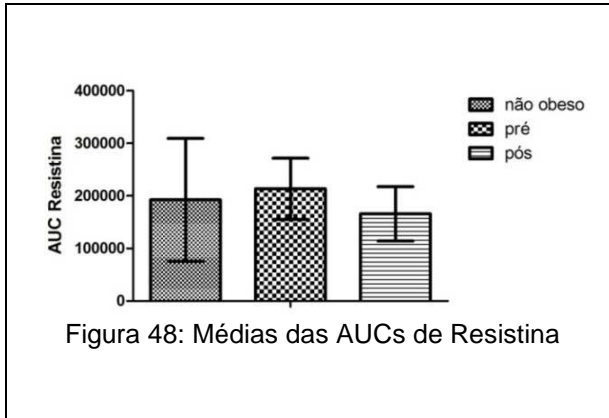
As concentrações de PAI-1 no T₀ foram 16834 (± 4521) ng/ml para os indivíduos não obesos, 16839 (± 1816) ng/ml para os obesos no pré-operatório e 18468 (± 4715) ng/ml para obesos no pós DSP, não havendo diferença estatística. A concentração sérica média de PAI-1 no pré foi 17164 (± 3159) ng/ml durante o dia e 16105 (± 2729) ng/ml durante a noite; e no pós-operatório foi 16776 (± 3773) ng/ml durante o dia e 16719 (± 2967) ng/ml durante a noite, não havendo diferença estatística. A média da AUC para PAI-1 dos indivíduos não obesos foi de 394556 (± 38680), dos pacientes pré foi 400714 (± 67549) e dos pacientes pós 402111 (± 61955), não havendo diferença estatística entre a AUC dos indivíduos não obesos, obesos pré e obesos pós DSP.



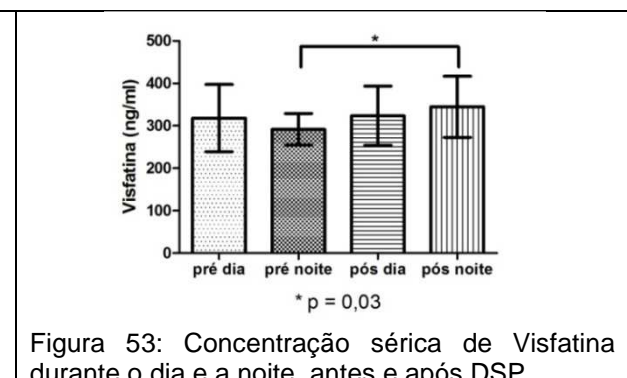
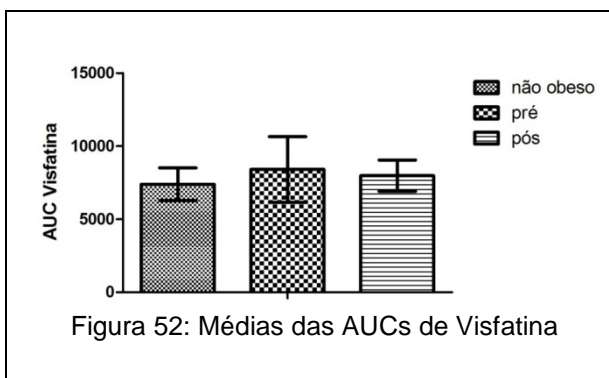
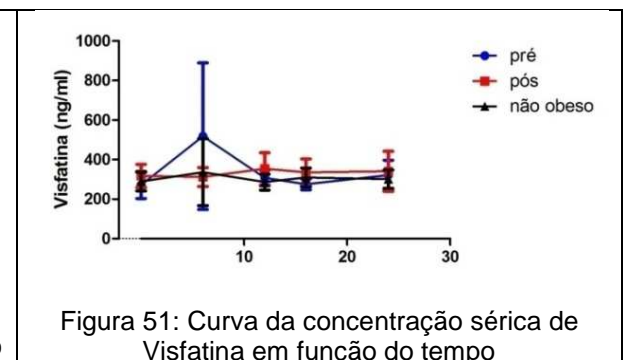
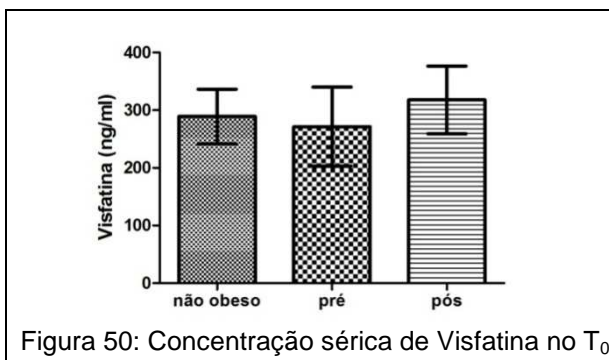


As concentrações de Peptídeo-C no T_0 foram 9010 (\pm 1505) ng/ml para os indivíduos não obesos, 2735 (\pm 1487) ng/ml para os obesos no pré DSP e 8808 (\pm 6174) ng/ml para obesos pós, havendo diferença ($p = 0,0001$) entre os não obesos e obesos pré, bem como entre os obesos no pré e pós-operatório ($p = 0,04$). A concentração sérica média de Peptídeo-C no pré-operatório foi 5666 (\pm 4746) ng/ml durante o dia e 13747 (\pm 8050) ng/ml durante a noite; e no pós foi 9839 (\pm 6478) ng/ml durante o dia e 16851 (\pm 6142) ng/ml durante a noite, havendo diferença ($p = 0,03$) entre os valores dia no pré e pós-operatório. A média da AUC para Peptídeo-C dos indivíduos não obesos foi de 379954 (\pm 58943), dos pacientes pré foi 237031 (\pm 109181) e dos pacientes pós 307726 (\pm 105741). Houve diferença ($p = 0,04$) entre a AUC dos indivíduos não obesos comparados com os obesos pré DSP.





As concentrações de Resistina no T_0 foram 9919 (\pm 1028) ng/ml para os indivíduos não obesos, 8526 (\pm 4517) ng/ml para os obesos pré e 6790 (\pm 2030) ng/ml para obesos pós DSP, havendo diferença ($p = 0,02$) entre os não obesos e obesos pós. A concentração sérica média de Resistina no pré foi 8846 (\pm 3435) ng/ml durante o dia e 8920 (\pm 2134) ng/ml durante a noite; e no pós-operatório foi 6951 (\pm 2513) ng/ml durante o dia e 6614 (\pm 2468) ng/ml durante a noite, havendo discreta diferença ($p = 0,07$) entre os valores dia no pré e pós-operatório e diferença significativa entre os valores noite pré e pós ($p = 0,02$). A média da AUC para Resistina dos indivíduos não obesos foi de 192387 (\pm 116843), dos pacientes pré foi 213513 (\pm 57977) e dos pacientes pós 165826 (\pm 51816). Não houve diferença significativa entre a AUC dos grupos avaliados.



As concentrações de Visfatina no T₀ foram 289,0 (± 47,40) ng/ml para os indivíduos não obesos, 271,7 (± 68,35) ng/ml para os obesos no pré-operatório e 317,8 (± 58,63) ng/ml para obesos no pós DSP, não havendo diferença estatística. A concentração sérica média de Visfatina no pré-operatório foi 318,1 (± 79,26) ng/ml durante o dia e 291,6 (± 37,15) ng/ml durante a noite; e no pós foi 323,6 (± 69,74) ng/ml durante o dia e 344,6 (± 72,06) ng/ml durante a noite, havendo diferença (p = 0,03) entre os valores noite no pré e pós-operatório. A média da AUC para Visfatina dos indivíduos não obesos foi de 7385 (± 1120), dos pacientes pré foi 8404 (± 2245) e dos pacientes pós 7972 (± 1070). Não houve diferença significativa entre a AUC dos grupos pesquisados.

5 DISCUSSÃO

Muitos dos estudos clínicos aqui referenciados analisam curvas com pontos de coleta de amostras em jejum e 30, 60, 90 e 120 minutos após alimentação controlada (MILLÉO, 2009; MINGRONE *et al*, 2009; GUIDONE *et al*, 2006). Esta pesquisa, no entanto, optou por uma curva com 5 pontos de coleta dentro de 24 horas. Outro viés relevante deste estudo é que se optou por coletar amostras de sangue venoso de indivíduos em sua vida cotidiana, sem nenhuma padronização de dieta quanto aos percentuais de carboidratos, proteínas ou gorduras, nem quanto à quantidade calórica ingerida ou horários. Nesse caso, a literatura mostrou-se escassa, dificultando a discussão. Uma vez que não houve padronização de dieta, a fisiologia de liberação dos hormônios e adipocinas (BERNE, 2009; GUYTON, 2006) variou sensivelmente as concentrações plasmáticas das substâncias analisadas entre os participantes da pesquisa e pode ter originado disparidade em relação a outros estudos clínicos.

Então, deve-se considerar para a primeira parte da análise deste trabalho a AUC de concentração plasmática do biomarcador em função do tempo, pois independente de picos de concentração em diferentes períodos do dia (estimulados pela dieta), apresenta-se como um parâmetro para comparação.

Com relação à influência da obesidade nos padrões circadianos de hormônios e adipocinas, dados consistentes demonstram que as taxas de Leptina, que apresenta ações anorexígenas encontram-se paradoxalmente elevadas em pacientes obesos (KARMAZYN *et al*, 2008; OLIVEIRA Jr. *et al*, 2010; PRINS, 2002; JEQUIER, 2002). Mesmo padrões de Leptina elevados não são capazes de sinalizar para a redução do aporte de alimentos e, conseqüentemente, acarretam em obesidade. Este trabalho corrobora com tais informações ao demonstrar elevação dos padrões de **Leptina** nos obesos pré quando comparados com indivíduos não obesos, sendo um importante biomarcador da obesidade.

A adiponectina potencializa a ação hepática da insulina, diminuindo os triglicerídeos a nível hepático e muscular, e tem ação antiinflamatória resultante de efeitos inibitórios sobre o *fator de necrose tumoral alfa* (TNF- α). As taxas séricas de adiponectina encontram-se diminuídas na resistência à insulina e obesidade (BERG;

SCHERER, 2005; DREVON, 2005; XU *et al*, 2003). O presente trabalho demonstrou padrões de **adiponectina** significativamente menores em indivíduos obesos.

O **GIP** tem como principal função estimular as células beta pancreáticas a secretar de insulina em resposta à glicose, sendo sua liberação intensa no período pós-prandial (VILSBOLL *et al.*, 2003). Também aumenta a lipogênese (BAGGIO *et al.*, 2007) e tem sido associado com obesidade. Tal informação é reforçada por estudos que mostram redução do acúmulo de gordura em ratos *knock out* de receptores GIP (MIYAWAKI *et al.*, 2002). O presente estudo não demonstra variação de **GIP** em indivíduos obesos comparados com indivíduos não obesos, mas aponta para uma tendência de elevação no T₀ para obesos pós.

A resistina é outra adipocina que se apresenta aumentada na obesidade (STEPPAN, *et al*, 2001; STEPPAN; LAZAR, 2002) e tem a capacidade de induzir resistência à insulina. Este trabalho demonstrou discreta elevação da **resistina** nos obesos pré, em relação aos não obesos.

A resistência à insulina, característica nos indivíduos obesos, faz com que os padrões dessa substância sejam elevados em relação aos não obesos (SPIEGEL *et al*, 2005; KNUTSSON, 2003). De forma controversa, para Dixon e colaboradores, pacientes obesos apresentaram níveis menores de insulina quando comparadas as AUC com indivíduos controle (DIXON *et al*, 2005). O presente estudo demonstrou menor concentração de **Insulina** nos pacientes obesos quando comparados com não obesos. Sabendo que o peptídeo conector (peptídeo-C) está envolvido na síntese da insulina, sendo considerado um marcador indireto da sua produção (GROSS *et al.*, 2002), a diminuição da insulina foi corroborada, de forma indireta, com a diminuição no padrão de **peptídeo-C** observada nos obesos pré.

Os níveis de grelina na obesidade são relatados como inferiores aos dos indivíduos não obesos (ROSICKA *et al*, 2003; GALE *et al*, 2004). O presente trabalho, no entanto, demonstrou discreta elevação da **grelina** para os indivíduos obesos em relação aos indivíduos não obesos.

Secretado pelas células L situadas no intestino distal, o GLP-1 promove redução da absorção de glicose nas primeiras porções do intestino e, conseqüentemente, das taxas glicêmicas, o que implica em redução das taxas de insulina no pós-prandial (MEIER, 2005). O presente estudo demonstrou-se uma discreta elevação de **GLP-1** nos obesos pré.

A visfatina, que é um peptídeo expresso preferencialmente pelo tecido adiposo visceral, quantitativamente relacionado à gordura visceral (TRAYHURN; WOOD, 2005), capaz de mimetizar os efeitos da insulina (FANTUSSI, 2005), se encontra elevada em pacientes obesos (UNLÜTÜRK *et al*, 2010; LIN *et al*, 2009). O Inibidor do Ativador de Plasminogênio-1 (PAI-1) tem sua secreção estimulada pela insulina e corticóides e está quantitativamente relacionado à gordura visceral (TRAYHURN, 2005). Indivíduos obesos têm elevadas taxas circulantes de marcadores inflamatórios como o PAI-1 (ELEONORE, 2010). Este trabalho não demonstra clara tendência para concentrações séricas de **PAI-1** e **visfatina** nos indivíduos obesos quando comparados com os não obesos. Já o **glucagon** demonstrou-se discretamente diminuído nos indivíduos obesos.

A resistina é uma adipocina capaz de induzir resistência à insulina e está normalmente elevada em obesos (GREGOIRE, 2001). Esta pesquisa demonstrou discreta elevação da **resistina** nos obesos pré, em comparação com os indivíduos não obesos, podendo indicar tendência a desenvolver resistência à insulina.

Com relação ao impacto da cirurgia DSP nos padrões circadianos dos indivíduos obesos, cabe salientar que neste estudo está sendo analisada apenas uma das inúmeras técnicas de cirurgia bariátrica: a Adaptação Digestiva com *Duodenal Switch* Parcial. Diferentes procedimentos cirúrgicos implicam diferentes resultados quanto às concentrações de hormônios e adipocinas (LEONETTI *et al*, 2003; DIXON *et al*, 2005). Por outro lado Dixon e colaboradores, em um estudo com sujeitos submetidos à cirurgia laparoscópica de banda gástrica ajustável que foram separados em dois grupos: um com restrição ótima banda e uma com restrição reduzida, demonstraram que padrões de insulina, grelina e leptina não sofreram alterações comparando os níveis de restrição ótima e reduzida (DIXON *et al*, 2005). Já Cummings e Shannon demonstraram que os efeitos de *bypass* gástrico em Y de Roux na concentração da grelina foram inconsistentes (CUMMINGS; SHANNON, 2003).

Outro viés importante e controverso está nos fatores relacionados ao paciente. Num estudo de Mingrone e colaboradores (2009), 10 sujeitos com obesidade mórbida, cinco com tolerância normal à glicose e cinco com diabetes tipo 2, foram estudados antes e dentro de 2 semanas após DBP. Como resultados demonstrou-se que o efeito da DBP no padrão de 24 h das incretinas diferiu entre indivíduos com tolerância normal à glicose (TNG) e pacientes diabéticos. A

insuficiência na secreção GLP-1 foi revertida na TNG e não pode ser superada nos pacientes com diabetes. Por outro lado, a secreção de GIP foi reduzida no pós-operatório apenas em pacientes diabéticos (MINGRONE *et al*, 2009).

Milléo (2009) demonstrou aumento da AUC de GLP-1 para coletas em jejum, 30, 60, 90 e 120 minutos após dieta padrão, posteriormente a entero-omentectomia adaptativa e Valverde (2005) citou aumento do GLP-1 na derivação jejuno-ileal. Porém a literatura traz resultados controversos. Guidone e colaboradores em um estudo realizado em duas etapas: uma e duas semanas após cirurgia bariátrica DBP, demonstraram que a taxa de GLP-1 em jejum aumentou significativamente uma semana após cirurgia e em 4 semanas após cirurgia o GLP-1 não se alterou (GUIDONE *et al*, 2006). Em pesquisa realizada com pacientes que foram submetidos à *bypass* jejunoileal, há aproximadamente vinte anos, para se estudar os hormônios gastrointestinais e esvaziamento gástrico, Naslund e colaboradores observaram que, em geral, o GLP-1 estava elevado após a cirurgia quando comparados com indivíduos obesos não operados. Porém, este aumento não foi significativo na comparação com o grupo controle não operado (NASLUND *et al*, 1997). A presente pesquisa demonstrou tendência a diminuição de **GLP-1** durante a noite nos obesos pós.

Este estudo demonstrou elevação da **grelina** durante a noite nos pacientes pós DSP. Esse achado pode estar relacionado a uma necessidade maior de alimentação à noite. Também demonstrou elevação da **visfatina** e tendência a elevação de **glucagon** durante a noite nos obesos pós.

O presente trabalho demonstrou que os obesos após a DSP tiveram os níveis de **insulina** aumentados comparados com os dados pré, tanto no dia quanto à noite. O **Peptídeo-C**, que se encontrava reduzido nos obesos pré-DSP, também sofreu elevação, aproximando suas taxas às dos indivíduos não obesos, tanto à noite quanto durante o dia.

Este estudo demonstrou diminuição dos níveis de **resistina** após a cirurgia bariátrica. Essa diminuição está relacionada com uma baixa dos níveis de resistina pela noite nos indivíduos obesos e também forte tendência de redução durante o dia. Esses resultados são de grande importância mostrando que já aos 60 dias pós-cirurgia os níveis de resistina diminuíram apontando para uma proteção contra a resistência à insulina.

Este trabalho demonstrou que não houve tendência de mudança para **GIP** e **PAI-1** na comparação das AUCs no pré e pós-operatório. Com relação à **adiponectina**, que se apresentou diminuída nos indivíduos obesos, e que possui tendência a aumentar com a perda de peso (FARAJ *et al*, 2003), o presente estudo demonstrou que não foram normalizados seus padrões 60 dias após a DPS. Tais achados sugerem que, ou seria necessário mais tempo pós-cirurgia para haver mudanças nos níveis desses biomarcadores ou que este tipo de cirurgia não é capaz de corrigir os níveis circadianos dessas substâncias.

Dados consistentes demonstram que diferentes técnicas de cirurgia bariátrica induzem redução nos padrões de Leptina (GUIDONE *et al*, 2006; DIXON *et al*, 2005). O presente estudo, no entanto, é pioneiro em demonstrar que a DSP normaliza os níveis circadianos de **leptina** durante o dia e à noite em pacientes obesos após 60 dias da cirurgia. Este dado mostra que cirurgia de derivação biliopancreática com *duodenal switch* parcial tem efeitos positivos na correção dos níveis circadianos de leptina. É relevante salientar que a redução nos níveis de leptina pode explicar a perda de peso dos pacientes bem como a perda de peso pode ser o causador da baixa dos níveis de leptina, sendo estes dependentes da quantidade de tecido adiposo presente.

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

6.1 CONCLUSÃO

O presente estudo permite concluir que:

- a) A obesidade aumenta os padrões circadianos de leptina e reduz os níveis de adiponectina.
- b) A derivação biliopancreática com *duodenal switch* parcial (DSP) é capaz de reduzir o IMC de indivíduos obesos, diminuir as concentrações de leptina durante o dia e à noite; baixar os níveis de resistina durante o dia e à noite; elevar insulina e peptídeo-C durante o dia e noite e aumentar grelina e visfatina durante a noite.

6.2 PERSPECTIVAS

Considerando os resultados encontrados e as limitações da pesquisa, como a casuística e um único momento de avaliação pós-operatória, sugere-se a realização de mais estudos sobre a influência da obesidade nos padrões circadianos de hormônios e adipocinas e o impacto da cirurgia de adaptação digestiva com DSP nesses padrões. A perspectiva é que trabalhos futuros, analisando maior número de sujeitos, avaliações pós-cirúrgicas em diversos outros momentos, bem como estudos com outras técnicas, encontrem correlações capazes de predizer se pacientes com determinado perfil de hormônios e adipocinas antes da cirurgia bariátrica são mais ou menos favoráveis à perda ou ao reganho de peso.

REFERÊNCIAS

ADAMS, T.D., PENDLETON, R.C., STRONG, M.B., *et al.* Health outcomes of gastric bypass patients compared to nonsurgical, nonintervened severely obese. **Obesity** (Silver Spring), 18, v. 1, p. 121-130, 2010.

AHN, S.M.; POMP, A.; RUBINO, R.F. Metabolic surgery for type 2 diabetes; **Ann. N.Y. Acad. Sciences**. 1212 E37–E45. 2010

ANDERSON, J.W.; GRANT, L.; GOTTHELF, L.; STIFLER, L.T. Weight loss and long-term follow-up of severely obese individuals treated with an intense behavioral program. **Int J Obes** 31:488–493, 2006.

ARIYASU, H., TAKAYA, K., TAGAMI, T., *et al.* Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. **J Clin Endocrinol Metab**, 86,v. 10, p. 4753-4758, 2001.

BAGGIO, L.L.; DRUCKER, D.J. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. **Gastroenterology**. 2007;132; 2131-57.

BASS, J.; TAKAHASHI, J.S. Circadian Integration of Metabolism and Energetics. **Science**: 330: 1349-54, 2010.

BERG, A.H.; SCHERER, P.E. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. **Circ Res**; 96(9):939-949, 2005.

BERNE, R.M.; Levi, M.N. **Fisiologia**. 6^a ed. Editora Elsevier, 2009.

BIO-RAD LABORATORIESa, Inc. **BioPlex Multiplex System**. Bulletin 5405 Rev D US/EG. 12-1206 0812 Sig 1211. Disponível em: <http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lsr/literature/Bulletin_5405.pdf>. Acesso em: 25/08/2013.

BIO-RAD LABORATORIESb, Inc. **BioPlexTechnology**: an overview of hardware, software, maintenance and data analysis. Disponível em: <http://users.stlcc.edu/Departments/fvbio/Array_Reader_BioPlex_%20Overview_AReid.pdf>. Acesso em: 25/08/2013.

BODEN, G.; CHEN, X.; URBAIN, J.L. Evidence for a circadian rhythm of insulin sensitivity in patients with NIDDM caused by cyclic changes in hepatic glucose production. **Diabetes** 48:2182-88, 1999.

COSTA, J. V.; DUARTE, J. S. Tecido adiposo e adipocinas. **Acta Med Port**; 19: 251-256, 2006.

CUMMINGS, D.E.; SHANNON, M.H. Roles for ghrelin in the regulation of appetite and body weight. **Arch Surg**. 138:389–396, 2003.

DEYLGAT, B.; D'HONDT, M.; POTTEL, H.; VANSTEENKISTE, F., VAN ROOY, F.; DEVRIENDT, D. Circadian rhythms of GIP and GLP1 in glucose-tolerant and in type 2 diabetic patients after biliopancreatic diversion. **Diabetologia** 52:873–881, 2009.

DEYLGAT, B.; D'HONDT, M.; POTTEL, H.; VANSTEENKISTE, F.; VAN ROOY, F.; DEVRIENDT, D. Indications, safety, and feasibility of conversion of failed bariatric surgery to Roux-en-Y gastric bypass: a retrospective comparative study with primary laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass. **Surg Endosc**, 2012.

DIXON, A.F.R.; DIXON, J.B.; O'BRIEN, P.E. Laparoscopic adjustable gastric banding induces prolonged satiety: a randomized blind crossover study. **J Clin Endocrinol Metab**; 90(2):813-9, 2005.

DREVON, C.A. Fatty acids and expression of adipokines. **Biochim Biophys Acta**; 1740(2):287-292, 2005.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. **J.Allergy Clin Immunol**. 115(5):911-9, 2005.

FARAJ, M., HAVEL, P.J., PHELIS, S., BLANK, D., SNIDERMAN, A.D. e CIANFLONE, K. Plasma acylation-stimulating protein, adiponectin, leptin, and ghrelin before and after weight loss induced by gastric bypass surgery in morbidly obese subjects. **J Clin Endocrinol Metab**, 88, v. 4, p. 1594-1602, 2003.

GALE, S.M.; CASTRACANE, V.D.; MANTZOROS, C.S. Grelina e controle da energia de homeostase. **NewsLab**;64:130-8, 2004.

GRANELL, R.A. El efecto fisiológico de las hormonas incretinas. **Johns Hopkins Advanced Studies in Medicine**; 6: S581- S585. 2006.

GREGOIRE, F;M. Adipocyte differentiation: from fibroblast to endocrine cell. **Exp Biol Med** (Maywood);226(11):997-1002, 2001.

GROSS, J.L.; SILVERIO, S.P.; CAMARGO, J.L. *et al.* Diabetes Mellito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arq Bras Endocrinol Metab**.;46:16-26. 2002.

GUIDONE, C.; MANCO, M.; VALERA-MORA, E.; *et al.* Mechanisms of recovery from type 2 diabetes after malabsorptive bariatric surgery. **Diabetes** 55:2025–2031, 2006.

GUYTON, A. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11^a ed. Editora Elsevier, 2006.

HAVEL, P.J. Update on adipocyte hormones: regulation of energy balance and carbohydrate/lipid metabolism. **Diabetes**; 53(Suppl1):S143-S151, 2004.

JEQUIER E: Leptin signaling, adiposity, and energy balance. **Ann N Y Acad Sci**; 967:379-388, 2002.

KARMAZYN, M.; PURDHAM, D.M.; RAJAPUROHITAM, V.; ZEIDAN, A. Leptin signaling in the cardiovascular system. **Advance in biochemistry in health**; 20: 377-395, 2008.

KAZAKOS K. Incretin effect: GLP-1, GIP, DPP4. **Diabetes research and clinical practice**; 93S:S32-S36. 2011.

KETCHUM, E.S.; MORTON, J.M. Disappointing weight loss among shift workers after laparoscopic gastric bypass surgery. **Obes Surg** 17(5):581-4, 2007.

KNUTSSON A. Health disorders of shift workers. **Occup Med** 53: 103-08, 2003.

LEIDY, H.J.; GARDNER, J.K.; FRYE, B.R.; SNOOK, M.L.; SCHUCHERT, M.K.; RICHARD, E.L. Circulating ghrelin is sensitive to changes in body weight during a diet and exercise program in normal weight young women." **J Clin Endocrinol Metabol**, vol. 89, suppl. 6, 2004.

LEONETTI, F.; SILECCHIA, G.; IACOBELLIS, G. Different plasma ghrelin levels after laparoscopic gastric bypass and adjustable gastric banding in morbid obese subjects. **J Clin Endocrinol Metab**; 88(9):4227-31, 2003.

LIN, C.; LAI, M; LI, T.; LI, C.; LIU, C.; CHEN, C.; WU, M. Relationship between serum retinol binding protein 4 and visfatin and metabolic syndrome. **Diab res and Clinical practice**; 85:24-29. 2009.

LOWREY P.L.; TAKAHASHI J.S. Mammalian circadian biology: elucidating genome-wide levels of temporal organization. **Annu Rev Genomics Hum Genet** 5:407-441, 2004.

MEIER, J.J.; GALLWITZ, B.; KASK, B.; DEACON, C.F.; HOLST, J.J.; SCHMIDT, W.E.; et al. Stimulation of insulin secretion by intravenous bolus injection and continuous infusion of gastric inhibitory polypeptide in patients with type 2 diabetes and healthy control subjects. **Diabetes**; 53(Suppl 3): S220–S224, 2004.

MINGRONE, G.; NOLFE, G.; CASTAGNETO GISSEY, G.; IACONELLI, A.; LECCESI, L.; GUIDONE, C.; NANNI, G.; HOLST, J. J. Circadian rhythms of GIP and GLP1 in glucose-tolerant and in type 2 diabetic patients after biliopancreatic diversion. **Diabetologia**. 52:873–881, 2009.

MILLÉO, F. Q. **Entero-omentectomia adaptativa como tratamento auxiliar do diabetes mellitus tipo 2**. 2009. 108 f. Tese (Doutorado em Clínica Cirúrgica) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

MITCHELL, M.; ARMSTRONG, D.T.; ROBKER, R.L.; NORMAN, R.J. Adipokines: implications for female fertility and obesity. **Reproduction**; 130(5):583-597, 2005.

MIYAWAKI, K.; YAMADA, Y.; BAN, N.; et al. Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. **Nat Med**. Jul;8(7):738-42. Epub, 2002.

NASLUND, E. *et al.* Gastrointestinal hormones and gastric emptying 20 years after jejunum ileal bypass for massive obesity. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, Basingstoke, v. 48, p. 387-392, 1997.

OLIVEIRA Jr., S.A.; SILVA, M.D.; MARTINEZ, P.F. Differential nutritional, endocrine and cardiovascular effects in obesity-prone and obesity-resistant rats fed standard and hypercaloric diet. **MedSCI Monit**; 16:208-217, 2010.

OVERDUIN, J.; FRAYO, R.S.W.; GRILL, H.J.; KAPLAN, J.M.; CUMMINGS, D.E. Role of the duodenum and macronutrient type in ghrelin regulation. **J Clin Endocrinol Metab**; 146:845-50, 2005.

PEREIRA, D.S.; TUFIK, S.; PEDRAZZOLI, M. Moléculas que marcam o tempo: implicações para os fenótipos circadianos. **Rev Bras Psiquiatria**; 31(1):63-71, 2009.

PRINS, J.B: Adipose tissue as an endocrine organ. **Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**; 16(4):639-651, 2002.

PTITSYN, A.A.; ZVONIC, S.; CONRAD, S.A.; SCOTT, L.K.; MYNATT, R.L.; GIMBLE, J.M. Circadian clocks are resounding in peripheral tissues. **PLoS Comput. Biol.** 2:e16, 2006.

REXFORD, S.A. Adipose tissue as an endocrine organ. **Obesity**; 14: 242-247, 2006.

RODRIGUES, M. R. S. **Adaptação digestiva com duodenal switch parcial em pacientes diabéticos e com IMC<35 Kg/m²**: análise da resposta clínica, laboratorial, enterohormonal e da expressão do gene p53 na mucosa intestinal. 2012. 129f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

ROSICKA, M.; KRSEK, M.; MATOULEK, Z.; JARKOVSKA, Z.; MAREK, J.; JUSTOVA, V., *et al.* Serum ghrelin levels in obese patients: the relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptors levels. **Physiol Res.**, vol. 52, suppl. 1, pp. 61-6, 2003.

SAAD, M.F.; RIAD-GABRIEL, M.G.; KHAN, A.; SHARMA, A.; MICHAEL, R.; JINAGOUDA, S.D.; BOYADJIAN, R.; STEIL, G.M. Diurnal and ultradian rhythmicity of plasma leptin: effects of gender and adiposity. **J Clin Endocrinol Metab** 83:453–459, 1998.

SANTORO, S.; VELHOTE, M.C.P.; MALZONI, C.E. Digestive Adaptation: A new surgical proposal to treat obesity based in Physiology and Evolution. **Einstein**; 1(2): 99-104. 2003.

SEUFERT J: Leptin effects on pancreatic beta-cell gene expression and function. **Diabetes**;53(Suppl 1):S152-S158, 2004.

SINHA, M.K.; OHANNESIAN, J.P.; HEIMAN, M.L.; KRIAUCIUNAS, A.; STEPHENS, T.W.; MAGOSIN, S.; MARCO, C.; CARO, J.F. Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulindependent diabetes mellitus subjects. **J Clin Invest** 97:1344–1347, 1996.

SPIEGEL, K.; KNUTSON, K.; LEPROULT, R.; TASALI, E.; VAN CAUTER, E. Sleep loss: a novel risk factor for insulin resistance and Type 2 diabetes. **J.Appl.Physiol** 99:2008-19, 2005.

STEPPAN, C.M., BAILEY, S.T., BHAT, S., BROWN, E.J., BANERJEE, R.R., WRIGHT, C.M., PATEL, H.R., AHIMA, R.S. e LAZAR, M.A. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 409, v. 6818, p. 307-312, 2001.

STEPPAN, C.M.; LAZAR, M.A. Resistin and obesity-associated insulin resistance. **Trends Endocrinol Metab**, 13, v. 1, p. 18-23,2002.

TAHERI, S.; LIN, L.; AUSTIN, D.; YOUNG, T.; MIGNOT, E. Short Sleep Duration Is Associated with Reduced Leptin, Elevated Ghrelin, and Increased Body Mass Index. **Plos Medicine** 1(3):e62, 2004.

TAHIRA, K.; UENO, T.; FUKUDA, N.; AOYAMA, T.; TSUNEMI, A.; MATSUMOTO, S.; NAGURA, C.; MATSUMOTO, T.; SOMA, M.; SHIMBA, S.; MATSUMOTO, Y. Obesity alters the expression profile of clock genes in peripheral blood mononuclear cells. **Arch Med Sci.** 7, 6:933-940, 2011.

TRAYHURN, P.; WOOD, I.S: Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. **Biochem Soc Trans**; 33(Pt 5):1078-1081, 2005.

TSCHOP, M.; SMILEY, D.L.; HEIMAN, M.L. Ghrelin induces adiposity in rodents. **Nature**; 407: 908-913, 2000.

UNLÜTÜRK, U.; HARMANCI, A.; YILDIZ, B.O.; BAYRAKTAR, M. Dynamics of Nampt/visfatin and high molecular weight adiponectin in response to oral glucose load in obese and lean women. **Clinical Endocrinology** 72, 469–474, 2010.

VALVERDE, I. *et al.* Changes in glucagon-like peptide-1 (GLP-1) secretion after biliopancreatic diversion or vertical banded gastroplasty in obese subjects. **Obes. Surg.**, London, v. 15, p. 387-397, 2005.

VIEIRA, E.; MARROQUÍ, L.; BATISTA, T.M.; CABALLERO-GARRIDO, E.; CARNEIRO, E.M.; BOSCHERO, A.C.; NADAL, A.; QUESADA, I. The clock gene *Rev-erb α* regulates pancreatic beta-cell function: modulation by leptin and high fat diet. **Endocrinology** 153:592-601, 2012.

VILSBOLL, T. *et al.* Similar elimination rates of glucagon-like peptide-1 in obese type 2 diabetic patients and healthy subjects. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, Charlotte, v. 88, n.1, p. 220-224, 2003a.

VIOQUE, J.; TORRES, A.; QUILES, J.; *et al.* Time spent watching television, sleep duration and obesity in adults living in Valencia, Spain. **Int J Obes Relat Metab Disord**, vol. 24, pp. 1683-8, 2000.

WILLIAMS, S.; CUNNINGHAM, E.; PORIES, W.J. Surgical Treatment of Metabolic Syndrome. **Med Princ Pract.** Jan 4. [Epub ahead of print], 2012.

XU, H.; BARNES, G.T.; YANG, Q., *et al.* Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. **J Clin Invest**; 112(12):1821-30, 2003.

YILDIZ, B.O.; SUCHARD, M.A.; WONG, M.L.; MCCANN, S.M.; LICINIO, J. Alterations in the dynamics of circulating ghrelin, adiponectin, and leptin in human obesity. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 101, 10434–10439, 2004.

ANEXO A - Parecer do COEP



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA



PROESP
Programa de Pós-Graduação em Pesquisa



COEP

COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER Nº 20/2012

Protocolo: 5198/12

No dia 29 de Março de 2012, a Comissão de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa intitulado **"Efeitos da cirurgia bariátrica nos ritmos circadianos de pacientes obesos"** de responsabilidade do pesquisador Fábio Quirillo Milléo.

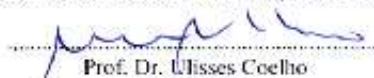
Conforme Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a esta Comissão, relatórios sobre andamento da pesquisa, conforme modelo (<http://www.uepg.br/coep/>).

Data para entrega do relatório Parcial: 04 de Abril de 2013.

Data para entrega do relatório Final: 31 de Outubro de 2013.

Ponta Grossa, 04 de Abril de 2012.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP



Prof. Dr. Ulisses Coelho
Coordenador

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o(a) senhor(a) a participar da pesquisa intitulada **Efeitos da Cirurgia Bariátrica nos Ritmos Circadianos de Pacientes Obesos**.

O presente projeto refere-se a um estudo realizado com pacientes com IMC superior a 35 que submeter-se-ão à cirurgia Adaptação Digestiva com *Duodenal Switch* Parcial (DSP), onde se deseja verificar variações circadianas nas taxas séricas de hormônios e adipocinas após cirurgia bariátrica. Amostras de sangue venoso dos pacientes serão obtidas, em dois momentos: antes da cirurgia DSP e dois meses após o procedimento. As coletas ocorreram em 05 pontos durante 24h, a saber: 7h, 13h, 19h, 23h e 7h. Também serão coletadas amostras de sangue venosos de indivíduos controle com IMC igual ou inferior a 25 nos mesmos 5 horários citados. Serão determinados os níveis plasmáticos de Peptídeo-C, Grelina, GIP, GLP-1, Glucagon, Insulina, Leptina, PAI-1, Resistina, Vistatina, Adiponectina e Melatonina, medidos com tecnologia Luminex e Elisa, e também será realizada pesquisa da expressão de genes relógio.

Embora, estudos demonstrem a relação entre os ritmos circadianos e o desenvolvimento de obesidade, não se sabe se a cirurgia bariátrica pode normalizar os ritmos circadianos de indivíduos obesos. Dessa forma, como resultados, espera-se identificar alterações nas taxas de alguns hormônios e adipocinas em indivíduos obesos e verificar como a cirurgia bariátrica altera os ritmos circadianos dessas substâncias – o que poderá explicar por que alguns indivíduos obesos têm recuperação do peso.

Fica garantido ao participante da pesquisa que se manterá o sigilo e o caráter confidencial das informações, zelando pela privacidade do participante e garantindo que sua identificação não será exposta nas conclusões ou publicações. Também lhe é garantido o direito de deixar de participar da pesquisa a qualquer tempo e receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento a qualquer dúvida acerca de assuntos relacionados com a pesquisa.

Dessa forma, eu _____,

R.G. nº _____, ____ anos (idade), endereço _____

_____, autorizo a coleta de amostras de sangue venoso para fins da pesquisa científica intitulada **Efeitos da Cirurgia Bariátrica nos Ritmos Circadianos de Pacientes Obesos**.

Ponta Grossa, ____ de _____ de 2012.

Assinatura do Participante: _____

Pesquisadores Responsáveis:

Fábio Quirillo Milléo

José Fabiano Costa Justus

Contato com o Comitê de Ética e Pesquisa: coep@uepg.br / (42) 3220-3108 / endereço: Campus de Uvaranas - Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - CEP 84.030-900 - Ponta Grossa.
Contato com os pesquisadores: jfcjustus@uepg.br / (42) 3220-3128.

ANEXO C – Autorização para Utilização de Figuras

29/08/13

Mensagem de Impressão do Outlook

Re: Solicitação para utilização de figuras

De: **Marcos Ricardo** (marcos.rod@uol.com.br) Este remetente está na [lista de contatos](#).
Enviada: quarta-feira, 28 de agosto de 2013 13:29:30
Para: José Fabiano Justus (jfcjustus@hotmail.com)

Ok Fabiano,

Autorizo a utilização das figuras.
Boa sorte.

Att
Marcos Ricardo da Silva Rodrigues.

Em 28/08/2013 08:07, José Fabiano Justus <jfcjustus@hotmail.com > escreveu:
Bom dia, Dr. Marcos Ricardo Silva Rodrigues.

Venho, através deste, solicitar autorização para utilizar as figuras 9 (Técnicas mais realizadas de Cirurgia Bariátrica) e 13 (Cirurgia de Adaptação Digestiva com *Duodenal Switch* Parcial) que compõem a Tese RODRIGUES, M. R. S. *Adaptação digestiva com duodenal switch parcial em pacientes diabéticos e com IMC: análise da resposta clínica, laboratorial, enterohormonal e da expressão do gene p53 na mucosa intestinal. 2012. 129f. Tese (Doutorado em Fisiopatologia Clínica Experimental) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.*

Esta autorização é para uso exclusivo de tais figuras na tese **Padrões circadianos de Hormônios e Adipocinas em Pacientes Obesos Antes e Após Cirurgia Bariátrica**, que será apresentada ao Programa de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica, da Universidade Federal do Paraná, defendida pelo doutorando José Fabiano Costa Justus.

Att. José Fabiano Costa Justus
Pós Graduação em Clínica Cirúrgica
Universidade Federal do Paraná
(42) 9106-7446