

ALLAN CEZAR FARIA ARAUJO

**EFEITOS DA DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL EM RATOS WISTAR
PORTADORES DE OBESIDADE INDUZIDA PELA DIETA DE CAFETERIA**

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

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Coutinho
Teixeira de Freitas

CURITIBA

2009

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária
UNIOESTE/Campus de Toledo.

Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

A663e Araújo, Allan Cezar Faria
Efeitos da derivação duodenojejunal em ratos
wistar portadores de obesidade induzida pela dieta de
cafeteria. – Curitiba, PR : (s. n.), 2009.
88 f. ; il.

Orientador: Drº Alexandre C. Teixeira de Freitas
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós-
Graduação em Clínica Cirúrgica, 2009.

1. Cirurgia bariátrica 2. Derivação duodenojejunal
3. Derivação gastrointestinal 4. Obesidade - Cirurgia I.
Freitas, Alexandre Coutinho Teixeira de, Orient. II. T

CDD 20. ed. 617.43059



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

**PARECER CONJUNTO DA BANCA EXAMINADORA
DA AVALIAÇÃO DA DEFESA DE DOUTORADO**

Aluno **ALLAN CEZAR FARIA ARAUJO**

Título da Tese: **EFEITO DA DERIVAÇÃO DUODENO JEJUNAL EM RATOS
WISTAR PORTADORES DE OBESIDADE INDUZIDA PELA DIETA DE
CAFETERIA .**

CONCEITOS EMITIDOS:

Prof. Dr. Tomaz Massayuki Tanaka	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Prof. Dr. João Batista Marchesini	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Prof. Dr. Marco Aurélio Raeder da Costa	conceito emitido	A	equivalência	10,0
Prof. Dr. Henrique Jorge Stahlke Júnior	conceito emitido	A	equivalência	10,0

Conceito Final de Avaliação:

Conceito: A Equivalência: 10,0

Curitiba, 18 de dezembro de 2009.

Prof. Dr. Tomaz Massayuki Tanaka

Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif

Prof. Dr. João Batista Marchesini

Prof. Dr. Marco Aurélio R. da Costa

Prof. Dr. Henrique Jorge Stahlke Júnior

À Meire, minha querida mulher, que ao escrever que TE AMO expressa todo o meu amor e aos nossos filhos, Luana e Allan Junior, frutos deste amor, que com carinho, dedicação e paciência participaram de todas as etapas deste trabalho.

Aos meus pais, Antonio e Nelza, pelo exemplo de vida que sempre norteou a minha postura como Filho, Pai e Médico com seus exemplos. Responsáveis diretos por esta realização.

Aos meus irmãos, Marilda, Antonio Sérgio e Alessandro, pelo apoio em todos momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

“Ser bem sucedido no mundo, é sempre uma questão de esforço pessoal. Todavia, é um engano, acreditar que alguém pode vencer sem a cooperação dos outros.”

Napoleon Hill

Ao Prof. Dr. Alexandre Coutinho Teixeira de Freitas, orientador deste trabalho, pelo exemplo de médico pesquisador e incentivador deste estudo.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Ligocki Campos, coordenador e Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto Matias, vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, meu reconhecimento, admiração e especial agradecimento pela oportunidade como aluno do Doutorado nesta renomada instituição.

Ao Prof. Dr. Paulo Afonso Nunes Nassif, orientador do meu mestrado e grande amigo, pelo incentivo na minha formação médica de graduação e pós-graduação e por ter especial participação na minha vida profissional, meu eterno agradecimento.

Ao Prof. Dr. Eduardo Ramos, pelos ensinamentos e pela experiência transmitida que foi parte fundamental deste estudo.

Ao Prof. Dr. João Carlos Simões, grande mestre, pelo exemplo de postura médica, competência profissional e invejável academicismo na graduação e especialmente na residência médica.

Ao Prof. Dr. Orival Alves, grande amigo e especial agradecimento pela oportunidade e confiança dada a minha carreira docente.

Aos Doutores, Ricardo Lemos, Luiz Fernando Córdova, Vagner Trautwein, Franco Harisch, Hemerson Paul Marques, pela amizade que nos une fazendo de todos nós uma grande família.

A Prof^a. Dr^a. Maria Lúcia Bonfleur e Prof^a. Dr^a. Sandra Lucinei Balbo docentes e pesquisadoras da Unioeste que foram essenciais para execução em todas as fases deste estudo.

Aos Professores da Unioeste Tomaz Massayuki Tanaka, Ricardo S. Tsuchiaya e Jose Dantas Lima Junior incentivadores deste estudo e pela

oportunidade de realizar o experimento no Laboratório de Técnica Operatória da Unioeste.

Ao Professor Victor de Souza, pelos ensinamentos de microcirurgia que viabilizaram este estudo.

Aos Professores da Unioeste Fábio Negretti, Paulino Yassuda, Angélica Soares, Célia Cristina Leme Beu, Luis Alberto Batista Peres, Márcia Miranda Torrejais que incentivam a continuidade desta pesquisa em outras áreas.

Aos Doutores, Faustino Garcia Alferes, Univaldo Etsuo Sagae, Dr. Luiz César Bredt, Dr. Mauro Willemann Bonatto e Dr. Ildemar Marino Canto, colegas docentes da Disciplina de Gastroenterologia e Cirurgia do Aparelho Digestivo da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Aos Doutores, Ulisses Tasca Roman, Ana Cristina Zonato Roman, Jorge Tranin, Rodrigo Guimarães Rodrigues, André Pereira Westphalen, pela amizade e oportunidade de juntos formarmos uma grande equipe na GASTROVEL.

À Sr^a Regina pela paciência e presteza com que me acompanharam em diversas etapas deste trabalho.

Ao Servidor Técnico Administrativo da Unioeste, Assis Roberto Escher que sempre esteve presente em especial na fase de experimentação

A Servidora Técnico Administrativo da Unioeste, Rute Rosane Pego, pela eficiência e dedicação prestada na COREME.

Aos discentes da Unioeste, Anelyse Bozzo Silva dos Santos, Bruno Francioli Celinski, Carolina Mie Sato, Caroline de Almeida, Diego Rosseman Vieira, Eliakin Radke, Elizamara Eliege Segala, Sarah Sella Langer, Alessandra Akemi Kawassaki, Ana Cristina Dresch, Douglas Luan dos Santos, Michel Cardoso, Mirela Bernardi Braga pela valiosa e indispensável participação em diversas etapas deste estudo.

Ao Programa de Residência Médica e Colegiado do Curso de Medicina da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pelo grande incentivo, acolhida e confiança.

À Capes pela bolsa concedida.

Agradecimento especial a todas as pessoas e amigos que de alguma maneira participaram deste estudo.

Creio em mim mesmo. Creio nos que trabalham comigo. Creio no chefe. Creio nos meus amigos. Creio em minha família. Creio que Deus me emprestará tudo o que eu necessito para triunfar, contanto que eu me esforce para alcançá-lo por meios lícitos e honestos. Creio nas orações e nunca fecharei os meus olhos para dormir sem pedir antes a divina orientação, a fim de ser paciente com os que não acreditam como eu acredito. Creio que o triunfo é o resultado do esforço inteligente e não depende de sorte, de magia, de amigos duvidosos, de companheiros ou do meu chefe. Creio que tirarei da vida exatamente o que nela colocar, e, assim sendo, serei cauteloso quanto a tratar os outros, como quero que eles sejam comigo. Não caluniarei aqueles de quem não gosto. Não diminuirei o meu trabalho por ver que outros o fazem. Prestarei o melhor serviço de que for capaz, por que jurei a mim mesmo triunfar na vida e sei que triunfo é o resultado de esforço consciente e eficaz. Finalmente, perdoarei os que me ofenderem, porque compreendo que algumas vezes ofendo os outros e necessito do seu perdão.

NAPOLEON HILL

RESUMO

Os estudos experimentais e clínicos apontam que o rearranjo da anatomia gastrointestinal é o mediador primário para o controle cirúrgico do diabetes melito tipo 2 (DM-2). O objetivo desse estudo é analisar os efeitos da derivação duodenojejunal em um modelo experimental de obesidade induzida pela dieta de cafeteria. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo controle (CON), que recebeu dieta padrão e água (n = 10); grupo cafeteria (CAF), que recebeu dieta de cafeteria e refrigerante. Este foi dividido aleatoriamente em três grupos: grupo cafeteria controle (CAF CON, n=10); grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodeno jejunal (CAF PC-DDJ, n=15) e grupo cafeteria submetido à derivação duodeno jejunal (CAF DDJ, n=22). Foram analisados as seguintes variáveis: peso corporal; comprimento nasoanal, circunferência abdominal e do índice de Lee; teste intraperitoneal de tolerância à glicose e tolerância à insulina, glicemia, insulinemia, cálculo do HOMA-IR e secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas isoladas na presença de diferentes concentrações de glicose; dosagem do colesterol total, triglicerídeos e HDL-colesterol plasmáticos; peso do fígado e da gordura hepática e peso da gordura retroperitoneal e perigonadal. Os animais receberam dieta de cafeteria por um período de 32 a 34 semanas quando foram submetidos à cirurgia e a morte ocorreu seis semanas após a cirurgia. Os seguintes resultados foram observados após a derivação duodenojejunal em relação ao CAF CON: não promoveu alteração do peso corporal, comprimento nasoanal, circunferência abdominal e do índice de Lee; no teste intraperitoneal de tolerância à glicose reduziu a glicemia aos 90, 120 e 180 minutos e não modificou a área abaixo da curva; diminuiu a resistência periférica à insulina no teste de tolerância à insulina na dosagem de insulina sérica e na análise pelo HOMA-IR; não houve modificação na glicemia; aumentou a secreção de insulina *in vitro* na concentração de 5,6 mmol/l de glicose e não modificou a secreção de insulina *in vitro* nas concentrações de 11,1 e 22,2 mmol/l de glicose; não alterou o perfil lipídico, exceto pelo aumento do HDL-colesterol; diminuiu o conteúdo total de gordura hepática; não promoveu alteração no peso do fígado, no peso da gordura retroperitoneal e no peso da gordura perigonadal. Em relação ao CAF PC-DDJ: não promoveu alteração do peso corporal, comprimento nasoanal, circunferência abdominal e do índice de Lee; diminuiu a resistência periférica à insulina na dosagem de insulina sérica e na análise pelo HOMA-IR e não modificou a secreção de insulina *in vitro*; não alterou o perfil lipídico; não promoveu alteração no conteúdo de gordura hepática total, no peso do fígado, no peso da gordura retroperitoneal e no peso da gordura perigonada. Conclui-se que a derivação duodenojejunal melhorou a homeostase glicêmica sem promover alteração do peso corporal, comprimento nasoanal, circunferência abdominal, índice de Lee, peso do fígado, peso da gordura retroperitoneal e da gordura perigonada.

Palavras-chave: Derivação duodenojejunal. Cirurgia bariátrica. Derivação gastrointestinal

ABSTRACT

Experimental and clinical studies support the concept that surgical control of type 2 diabetes mellitus (DM-2) occurs as a consequence of the rearrangement of gastrointestinal anatomy. The purpose of this study is to analyze the effect of duodenal-jejunal bypass in an experimental model of “cafeteria” diet-induced obesity. The animals had been divided randomly in two groups: control group (CON), that received chow diet and water (n = 10) and “cafeteria” group (CAF), that received “cafeteria” diet and soft drink. This last group was divided randomly in three sub-groups: control “cafeteria” (CAF CON, n=10); “cafeteria” submitted to sham operation (CAF PC-DDJ, n=15) and “cafeteria” underwent to duodenal-jejunal bypass (CAF DDJ, n=22). The following variables were analyzed: body weight; naso-anal length, abdominal circumference and Lee index; intraperitoneal glucose tolerance test, insulin tolerance test, glycemia, insulinemia, HOMA-IR and *in vitro* insulin secretion of isolated pancreatic islets; cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol plasma levels; liver weight and the hepatic fat content and retroperitoneal and perigonadal fat weight. The animals received the “cafeteria” diet for a period of 32 to 34 weeks and were submitted to surgery. The animals were killed 6 weeks after surgery. The effect of duodenal-jejunal bypass in relation to the CAF CON group were the following: did not promoting changing of the body weight, naso-anal length, abdominal circumference and Lee index; reduction of glucose levels on 90, 120 and 180 minutes on intraperitoneal glucose tolerance test (although the area under the curve) did not modify; reduction of insulin resistance observed on the intraperitoneal insulin tolerance test, serum insulin levels and HOMA-IR; glucose levels did not change; increased the insulin secretion *in vitro* in response of 5,6mmol/l of glucose concentration and did not modify the insulin secretion *in vitro* in concentrations of 11,1 and 22,2mmol/l of glucose; did not modify lipid metabolism; increase of the HDL-cholesterol and reduced the total content of hepatic fat; did not modify liver weight, retroperitoneal fat weight and perigonadal fat weight. The effect of duodenal-jejunal bypass in relation to the CAF PC-DDJ group were the following: did not promoting changing of the body weight, naso-anal length, abdominal circumference and Lee index; reduction on insulin resistance observed on serum insulin levels and HOMA-IR; did not modify insulin secretion *in vitro*; did not modify the total content of hepatic fat, liver weight, retroperitoneal fat weight and perigonadal fat weight. Results of this study support that the duodenal-jejunal bypass improved the glycemie homeostasis without promoting changing of the body weight, naso-anal length, abdominal circumference, Lee index, liver weight, retroperitoneal and perigonadal fat weight.

Key words: Duodenal-jejunal bypass. Bariatric surgery. Gastrointestinal bypass.

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DO PESO CORPORAL A PARTIR DAS 12 SEMANAS DE IDADE ATÉ A DATA DA MORTE.	50
GRÁFICO 2 - AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO.....	53

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - BIOTÉRIO SETORIAL (A) E RATOS NAS CAIXAS (B).....	31
FIGURA 2 - INTERVALOS E IDADE DOS RATOS.....	33
FIGURA 3 - CONFECÇÃO DOS <i>PELLETS</i>	34
FIGURA 4 - ALIMENTOS ADICIONAIS.....	34
FIGURA 5 - DESGASEIFICAÇÃO DO GUARANÁ.....	35
FIGURA 6 - DISTRIBUIÇÃO DA DIETA DE CAFETERIA.....	35
FIGURA 7 - ANTROPOMETRIA.....	36
FIGURA 8 - FÓRMULA PARA CÁLCULO DO ÍNDICE DE LEE.....	36
FIGURA 9 - LIQUIDIFICAÇÃO DA DIETA.....	37
FIGURA 10 - CUIDADOS PERIOPERATÓRIOS.....	38
FIGURA 11 - DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL.....	39
FIGURA 12 - EIXO GASTROINTESTINAL DA PC-DDJ E DDJ.....	40
FIGURA 13 - CUIDADOS COM DIETA NO PERÍODO PERIOPERATÓRIO.....	41
FIGURA 14 - GLICEMIA REALIZADA PELA CAUDA DO RATO.....	42
FIGURA 15 - CÂMARA DE CO ₂ (A) E GUILHOTINA PARA DECAPITAÇÃO (B)....	43
FIGURA 16 - COLETA E PREPARO DO SANGUE PARA ANÁLISE BIOQUÍMICA.....	44
FIGURA 17 - ISOLAMENTO DO PÂNCREAS NO RATO.....	46
FIGURA 18 - FÍGADO EXTRAÍDO DO GRUPO CAF (A) E DO GRUPO CON (C); PESAGEM EM BALANÇA DE PRECISÃO.....	47
FIGURA 19 - IDENTIFICAÇÃO (A) E RESSECÇÃO DA GORDURA RETROPERITONIAL (B)	47

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL, ENTRE OS GRUPOS, COM 12 SEMANAS DE IDADE, NA DATA DA CIRURGIA E NA DATA DA MORTE	49
TABELA 2 -	AVALIAÇÃO DA ÁREA ABAIXO DA CURVA (AUC) DO PESO CORPORAL APÓS COMPLETAR 12 SEMANAS DE IDADE, DESDE A SEMANA 12 A 27 E DA SEMANA 28 A 43	50
TABELA 3 -	AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL ENTRE OS MESMOS GRUPOS COM 12 SEMANAS DE IDADE, NA DATA DA CIRURGIA E NA DATA DA MORTE	51
TABELA 4 -	AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO	52
TABELA 5 -	AVALIAÇÃO DA ÁREA ABAIXO DA CURVA (AUC) DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO	53
TABELA 6 -	AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À INSULINA (ipITT) PELA CONSTANTE DE DECAIMENTO DA GLICOSE (K_{ITT}) NA QUARTA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO	54
TABELA 7 -	AVALIAÇÃO DO COMPRIMENTO NASOANAL, CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL E DO ÍNDICE DE LEE NA DATA DA MORTE	55
TABELA 8 -	AVALIAÇÃO DA GLICEMIA DE JEJUM, INSULINA E CÁLCULO DO HOMA-IR NA DATA DA MORTE	56
TABELA 9 -	AVALIAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL, TRIGLICERÍDEOS E HDL-COLESTEROL NA DATA DA MORTE.....	56
TABELA 10 -	AVALIAÇÃO DA INCUBAÇÃO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS COM GLICOSE E DO CONTEÚDO TOTAL DE INSULINA DAS ILHOTAS NA DATA DA MORTE (<i>IN VITRO</i>).....	57
TABELA 11 -	AVALIAÇÃO PORCENTAGEM DO PESO DO FÍGADO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL E DA GORDURA HEPÁTICA NA DATA DA MORTE.....	58

TABELA 12 - AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO DA GORDURA RETROPERITONIAL E GORDURA PERIGONADAL EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL NA DATA DA MORTE.....	59
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	- análise de variância
AUC	- área abaixo da curva
CaCl ₂	- cloreto de cálcio
CAF	- grupo cafeteria
CAF CON	- grupo cafeteria – controle
CAF DDJ	- grupo cafeteria – submetido à derivação duodenojejunal
CAF PC-DDJ	- grupo cafeteria – submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal
cm	- centímetros
CO ₂	- gás carbonico
CON	- grupo controle
DBP	- derivação biliopancreática
DDJ	- derivação duodeno jejuno
DGYR	- derivação gástrica em y de roux
DM-2	- diabete melito tipo 2
g	- grama
g/kg	- grama por quilograma
GIP	- <i>gastric inhibitory polypeptide</i>
G-K	- <i>goto-kakizaki</i>
GLP-1	- peptídeo semelhante ao glucagon 1
GLP-2	- peptídeo semelhante ao glucagon 2
HDL	- high density lipoprotein
HOMA-IR	- homeostatic model assessment of insulin resistance
IMC	- índice de massa corporal
ipGTT	- teste intraperitonal de tolerância à glicose
ipITT	- teste intraperitonal de tolerância à insulina
K-R	- krebs ringer
kcal/g	- quilocaloria por grama
KCl	- cloreto de potássio
kg	- quilograma
kg/m ²	- quilograma por metro quadrado
K _{ITT}	- taxa de decaimento da glicose
l	- litro
l/min	- litro por minuto
mg	- miligrama
mg/dl	- miligrama por decilitro
mg/kg	- miligramas por quilograma
MgCl ₂	- cloreto de magnésio

ml	- mililitro
mmol	- milimolar
N ₂	- nitrogênio
NaCl	- cloreto de sódio
NaHCO ₃	- bicarbonato de sódio
n ^o	- número
NPY	- neuropeptídeo y
O ₂	- oxigênio
p	- valor de significância
P.O.	- pós-operatório
pH	- potencial hidrogeniônico
PVPI	- polivinilpirrolidona
PYY	- peptídeo YY
TNF	- fator de necrose tumoral
U/kg	- unidade por quilograma
U/ml	- unidade por mililitro

LISTA DE SIGLAS

ADA	- American Diabetes Association
CEEAAP	- Comitê de Ética na Experimentação Animal e Aulas Prática
COBEA	- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CONCEA	- Conselho Nacional De Controle E Experimentação Animal
UNICAMP	- Universidade Estadual De Campinas
UNIOESTE	- Universidade Estadual Do Oeste Do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

- % - por cento
- β - beta
- $^{\circ}\text{C}$ - graus celsius
- ® - marca registrada
- μ - micro
- α - alfa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1	OBESIDADE E O DIABETE MELITO TIPO 2	19
2.2	HORMÔNIOS GASTROINTESTINAIS.....	21
2.3	TEORIA DAS ANTI-INCRETINAS.....	22
2.4	HIPÓTESE DO INTESTINO PROXIMAL E DO INTESTINO DISTAL	23
2.5	CIRURGIA BARIÁTRICA E DERIVAÇÃO GASTROINTESTINAL	24
2.6	DIETA DE CAFETERIA.....	26
2.7	CIRURGIA BARIÁTRICA EXPERIMENTAL.....	27
2.8	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	29
3	MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1	COMITÊ DE ÉTICA E ANIMAIS	31
3.2	GRUPOS DE ESTUDO	32
3.3	DIETAS	33
3.4	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	36
3.5	CUIDADOS PRÉ-OPERATÓRIOS.....	37
3.6	DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL (DDJ)	38
3.7	PSEUDOCIRURGIA DA DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL (PC-DDJ).....	39
3.8	CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS.....	40
3.9	CUIDADOS COM AS DIETAS DOS GRUPOS CONTROLES	41
3.10	TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT).....	42
3.11	TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À INSULINA (ipITT).....	42
3.12	MORTE	43
3.13	ANÁLISES BIOQUÍMICAS	44
3.14	ISOLAMENTO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS, INCUBAÇÃO COM GLICOSE E DOSAGEM DA INSULINA (<i>IN VITRO</i>).....	45
3.15	AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO DO FÍGADO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL E DOSAGEM DA GORDURA HEPÁTICA.....	46

3.16	RESSECÇÃO DA GORDURA RETROPERITONIAL E DA GORDURA PERIGONADAL E AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL	47
3.17	ANÁLISE ESTATÍSTICA	48
4	RESULTADOS	49
4.1	AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL ENTRE OS GRUPOS	49
4.2	AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL ENTRE O MESMO GRUPO	51
4.3	AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO	51
4.4	AVALIAÇÃO DO TESTE DE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À INSULINA (ipITT) PELA CONSTANTE DE DECAIMENTO DA GLICOSE (K_{ITT}) NA QUARTA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO	54
4.5	TEMPO OPERATÓRIO E COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS	54
4.6	AVALIAÇÃO DO COMPRIMENTO NASOANAL, CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL E DO ÍNDICE DE LEE NA DATA DA MORTE	55
4.7	AVALIAÇÃO DA GLICEMIA DE JEJUM, INSULINA E CÁLCULO DO HOMA-IR NA DATA DA MORTE	55
4.8	AVALIAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL, TRIGLICERÍDEOS E HDL-COLESTEROL NA DATA DA MORTE	56
4.9	AVALIAÇÃO DA INCUBAÇÃO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS COM GLICOSE E DO CONTEÚDO TOTAL DE INSULINA DAS ILHOTAS NA DATA DA MORTE (<i>IN VITRO</i>)	57
4.10	AVALIAÇÃO PORCENTAGEM DO PESO DO FÍGADO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL E DOSAGEM DA GORDURA HEPÁTICA NA DATA DA MORTE	58
4.11	AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO DA GORDURA RETROPERITONIAL E DA GORDURA PERIGONADAL EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL NA DATA DA MORTE	58
5	DISCUSSÃO	60
5.1	OBESIDADE	60
5.2	DIETA DE CAFETERIA	60
5.3	PESO CORPORAL	62
5.4	COMPRIMENTO NASOANAL, CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL E ÍNDICE DE LEE.....	64

5.5	COMPLICAÇÕES E CUIDADOS PERIOPERATÓRIOS.....	65
5.6	HOMEOSTASE GLICÊMICA	65
5.7	METABOLISMO LIPÍDICO.....	68
5.8.	CIRURGIA BARIÁTRICA EXPERIMENTAL.....	69
5.9	DERIVAÇÃO GASTROINTESTINAL.....	70
5.9.1	Hipótese do Intestino Proximal.....	70
5.9.2	Hipótese do Intestino Distal.....	72
5.10	INCRETINAS E OUTROS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA HOMEOSTASE GLICÊMICA	73
5.10.1	Incretinas.....	73
5.10.2	Ácidos Biliares.....	74
5.10.3	Inflamação.....	74
5.11	O FUTURO DOS ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....	75
5.12	APLICABILIDADE DESTE ESTUDO.....	75
5.13	LIMITAÇÕES DO ESTUDO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO CLÍNICO.....	76
5.14	O FUTURO DA CIRURGIA METABÓLICA	78
6	CONCLUSÕES	79
	REFERÊNCIAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

A obesidade tornou-se um problema de saúde mundial de proporções epidêmicas e é considerada a doença do século XXI [1-3]. Afeta mais de 250 milhões de pessoas em todo o mundo e gera altos custos para o sistema de saúde público e privado [4, 5].

A obesidade é a doença metabólica mais difundida mundialmente e de imensa importância científica. Dentre as comorbidades da obesidade, destaca-se o diabetes melito tipo 2 (DM-2), considerado o mais importante fator de risco [1, 6, 7].

O DM-2 afeta mais de 170 milhões de pessoas no mundo. Espera-se, em 2025, um risco de desenvolvimento no decorrer da vida de 20% e o dobro de pessoas acometidas [4, 8-10]. Desse total, cerca de 90% estarão acima do peso ou serão obesos e o grau de obesidade é o principal fator preditor da ocorrência do DM-2 em uma população. Entretanto, nem todos os indivíduos obesos desenvolvem o DM-2 e nem todos os indivíduos com DM-2 são obesos. O corrente aumento da prevalência da obesidade tem sido associado com aumento da prevalência do DM-2 e, sendo que mais de 90% evoluem com complicações de etiologia ainda sem os esclarecimentos necessários [1, 11, 12].

Os estudos experimentais e clínicos apontam que o rearranjo da anatomia gastrointestinal é o mediador primário para o controle cirúrgico do DM-2. Entretanto, a exata explicação, deve ainda ser elucidada. Estes achados sugerem que as cirurgias de derivação gastrointestinal podem alterar os mecanismos disfuncionais do intestino responsáveis pelas anormalidades da homeostase glicêmica [4, 13]. Esta hipótese representa um novo paradigma, o qual caracteriza o DM-2 como uma doença intestinal e potencialmente tratada pela cirurgia [8]. As intervenções no trato gastrointestinal podem levar ao controle do DM-2 por mecanismos que são independentes do tratamento da obesidade e da perda de peso, comprovando que o DM-2, *per si*, é potencialmente curado com a cirurgia [1, 10].

São necessários novos estudos experimentais para um melhor conhecimento da fisiopatologia da obesidade e do DM-2, e definição das possibilidades cirúrgicas para essas doenças, que o futuro demonstra grandes perspectivas para à cura.

A similaridade e homologia dos genomas entre humanos e roedores fazem desses animais modelos potenciais para o estudo das condições similares aos

humanos, entre elas a obesidade e o DM-2 [14, 15]. Apesar dos diversos modelos experimentais da obesidade e suas comorbidades, o modelo que mais se assemelha a obesidade humana é o modelo de obesidade utilizando dieta de cafeteria [15-18].

Este estudo teve por objetivo analisar os efeitos da derivação duodenojejunal em ratos Wistar machos, alimentados durante 38 a 40 semanas com dieta de cafeteria, em relação a um grupo controle e a outro grupo submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal analisando-se as seguintes variáveis: a) avaliação do peso corporal; b) avaliação do comprimento nasoanal, circunferência abdominal e do índice de Lee; c) avaliação da homeostase glicêmica pelo teste intraperitoneal de tolerância à glicose e tolerância à insulina, glicemia, insulinemia, cálculo do HOMA-IR e secreção de insulina pelas ilhotas pancreáticas isoladas na presença de diferentes concentrações de glicose; d) avaliação do metabolismo lipídico, pela dosagem do colesterol total, triglicerídeos e HDL-colesterol plasmáticos; e) avaliação do peso do fígado e da gordura hepática e f) avaliação do peso da gordura retroperitoneal e perigonadal.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 OBESIDADE E O DIABETE MELITO TIPO 2

A obesidade é uma das doenças de maior interesse econômico da atualidade. Acompanha-se de imensa importância científica, uma vez que esse evento correlaciona-se com outras potenciais comorbidades, aumentando o risco de mortalidade [19, 20]. No DM-2, a obesidade exacerba as anormalidades metabólicas presentes como a hiperinsulinemia, a hiperglicemia e a dislipidemia, é também um fator complicador para o tratamento do DM-2 e acarreta ao tratamento farmacológico uma maior dificuldade de resposta clínica satisfatória [11].

A etiologia da obesidade humana aparentemente se deve aos fatores sociais, poligênicos e dieta rica em caloria [1]. Para o tratamento da obesidade existem as seguintes modalidades, usadas atualmente para perda de peso: redução da ingestão calórica na dieta; aumento do gasto energético via exercício; a combinação dessas duas e o controle da absorção dos nutrientes nos diversos segmentos do trato gastrointestinal. Admite-se que mudar o estilo de vida, adquirir e conseguir manter por longo período a perda do peso é muito difícil somente com dieta e exercícios físicos. As drogas utilizadas para perda de peso reduzem de 5% até 10% do peso em um ano, porém a maioria das pessoas os recupera ao suspender o tratamento [5, 18].

O DM-2 compreende um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos, envolvendo todos os substratos energéticos (carboidratos, proteínas e gorduras) que é caracterizado, principalmente, pela hiperglicemia, resultante da deficiência de secreção ou da ação da insulina. A hiperglicemia crônica pode levar a danos microvasculares, macrovasculares e neuropáticos [21]. Atualmente, é uma das doenças crônicas mais onerosas para os sistemas de saúde e sua prevalência vem aumentando em proporções epidêmicas [22]. O DM-2 é mais comum do que o diabetes melito tipo 1, perfazendo cerca de 90% dos casos de diabetes. É uma doença epidêmica que afeta mais de 150 milhões de pessoas em todo o mundo, com expectativa de duplicação nas primeiras décadas desse milênio [23]. Desse

total, cerca de 80% estão acima do peso ou são obesos [24] e o grau de obesidade é o principal fator preditor da ocorrência do DM-2 em uma população.

Ao aumento da incidência da obesidade e do sobrepeso associa-se o aumento do número de pacientes resistentes à insulina e o DM-2. A resistência à insulina e a hiperinsulinemia, quando presentes e associadas à dislipidemia, à obesidade e à hipertensão arterial sistêmica, constituem a chamada síndrome metabólica, que é fator de risco para diversas doenças cardiovasculares [25].

A resistência insulínica, seja genética ou adquirida, é uma condição na qual concentrações fisiológicas de insulina provocam uma resposta subnormal na captação de glicose pelas células, especialmente nas musculares e gordurosas. Em consequência da menor captação de glicose, torna-se necessária uma maior produção de insulina pelo pâncreas para a manutenção dos níveis glicêmicos normais, aumentando desta forma os níveis circulantes de insulina [25].

A etiologia do DM-2 persiste ainda obscura e terapias convencionais não levam à cura [8, 9]. A terapia convencional baseia-se na mudança de estilo de vida e terapia medicamentosa com hipoglicemiantes orais e nos casos mais severos, insulino-terapia, com os mais variados índices de sucessos [10]. Entretanto, se a terapia medicamentosa for suspensa, invariavelmente, a glicemia altera e a doença progride [8, 26]. O DM-2 continua como causa primária de cegueira, amputações e insuficiência renal, aumentando em 3 vezes o risco de doença cardiovascular e em 2 vezes o risco de acidente vascular cerebral. Nos Estados Unidos o DM-2 é responsável por 10% do investimento total em saúde, correspondendo a 100 bilhões de dólares por ano [10, 27].

O DM-2 é considerado uma doença intratável e progressiva. Este conceito tem sido modificado, pela evidência demonstrada da remissão do DM-2 após cirurgia bariátrica, mantendo-se por longos períodos a normalidade da glicemia e hemoglobina glicosilada sem medicamentos [27]. A cirurgia bariátrica tem sido descrita como “padrão ouro” para o tratamento do DM-2 em pacientes obesos mórbidos. O controle glicêmico ocorre poucos dias após cirurgia, sugerindo que o controle do DM-2 se deve ao efeito direto da cirurgia e secundariamente ao controle das anormalidades relacionadas à obesidade [1, 4, 8, 9, 12, 27-30].

Precocemente, na história natural do DM-2, a resistência insulínica está bem estabelecida, progredindo posteriormente para intolerância à glicose e o diabetes. Pelas proporções epidêmicas e o crescimento corrente do DM-2, associado à

obesidade, constitui-se como uma prioridade o desenvolvimento de novas abordagens clínicas e experimentais para melhor entendimento destas doenças.

2.2 HORMÔNIOS GASTROINTESTINAIS

Bayliss e Starling descobriram o primeiro hormônio gastrointestinal, a secretina, em 1902. Considera-se este marco, o nascimento da endocrinologia gastrointestinal [20]. Na última década, a lista de peptídios encontrados no trato gastrointestinal tem crescido exponencialmente, para um número superior a 40 peptídios. Os peptídios intestinais exercem seus efeitos nos tecidos alvos de várias maneiras, entre elas: neurotransmissor, neurócrino-neuromodulador; autócrino que exerce seus efeitos sobre suas próprias células; parácrino que afeta células adjacentes às células que se originam e endócrino que liberam os peptídeos dentro da circulação geral e atingem todos os tecidos do corpo [31].

Existem, dois tipos básicos de células endócrinas que secretam peptídios no intestino: 1) tipo aberta, que, frequentemente, tem seu lado da mucosa coberto por microvilosidades, permitindo que estas células se comuniquem diretamente com o conteúdo da luz intestinal e respondam à presença de nutrientes, secreções intestinais como a bile e o suco pancreático, mudanças de pH ou outros fatores estimuladores ou inibitórios contidos no quimo; 2) tipo fechada, que libera seu conteúdo de secreção via processos citoplasmáticos para células epiteliais muito próximas, agindo de forma parácrina [12].

Os hormônios gastrointestinais, peptídio YY (PYY), peptídio semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) e o peptídio semelhante ao glucagon 2 (GLP-2) são produzidos pelas células endócrinas tipo aberto, célula-L, no trato intestinal distal, principalmente no íleo terminal e cólon ascendente [11, 12, 19].

O GLP-1 e o GIP são denominados incretinas e suas ações na célula β do pâncreas incluem o aumento da sensibilidade à glicose, crescimento da célula β , ou seja, ação antiapoptose das incretinas e melhora da ação da insulina. O GLP-1 pode, ainda, inibir o esvaziamento gástrico e conseqüentemente diminuir a ingestão de alimentos. Entretanto, as ações das incretinas podem eventualmente levar à

hipoglicemia, condição potencialmente letal, quando não devidamente tratada [1, 4, 8, 13, 26, 32, 33].

O aumento do GLP-1 é considerado um dos fatores principais na melhora do controle glicêmico, após a cirurgia da derivação gástrica em Y de Roux (DGYR), derivação biliopancreática (DBP) e interposição ileal em estudos clínicos e experimentais. Estes fatores estão envolvidos como um importante indutor e mantenedor da perda de peso após cirurgia bariátrica [4, 6, 9, 11, 32].

2.3 TEORIA DAS ANTI-INCRETINAS

Para explicar como a exclusão duodenal melhora o DM-2 e a possível contribuição do intestino delgado proximal na fisiopatologia desta doença, foi desenvolvida a teoria das anti-incretinas. A teoria chamada eixo enteroinsular é inteiramente baseada no conceito das incretinas. Postula-se a existência de um mecanismo de contrarregulação, estimulado pela simples passagem dos nutrientes pelo duodeno. O chamado sistema anti-incretinas tem ação oposta das incretinas, com diminuição da secreção e ação da insulina, ou seja, resistência insulínica e redução do crescimento das células β . Contrariamente, estas ações preveniriam a hipoglicemia induzida pelas incretinas. Enquanto, um equilíbrio na produção de incretinas e anti-incretinas é necessário para manter a glicemia normal, um descontrole poderia provocar uma produção excessiva de anti-incretinas, causando resistência insulínica, diminuição da secreção de insulina e depleção das células β , em outras palavras, o DM-2. Assim, uma produção insuficiente de anti-incretinas, após cirurgias que impeçam a passagem de nutrientes nos segmentos iniciais do intestino delgado, pode causar instabilidade no sistema e não ocorrer balanço efetivo das incretinas, levando a hiperinsulinemia, hipoglicemia e proliferação de células β , portanto, cura do DM-2. Assim, enquanto um excesso de produção de anti-incretinas está envolvido na fisiopatologia do DM-2, a deficiência na produção de anti-incretinas após derivação gastrointestinal pode explicar o controle do DM-2 e a raridade da complicação como a nesidoblastose, que leva a hipoglicemia

pós-prandial e síndrome *dumping* que podem ocorrer após cirurgias de exclusão duodenal [1, 4, 8, 13, 26, 32, 33].

2.4 HIPÓTESE DO INTESTINO PROXIMAL E DO INTESTINO DISTAL

As mudanças na anatomia do trato gastrointestinal resultam em diferentes efeitos na homeostase glicêmica. Duas hipóteses têm sido aventadas para explicar qual parte do rearranjo anatômico é essencial para o controle do DM-2 nas derivações gastrointestinais.

Na hipótese do intestino distal, o controle do DM-2 resulta da apresentação do quimo com nutrientes no intestino distal, o qual inicia um sinal fisiológico de melhora do metabolismo da glicose [1, 4, 8, 13, 26, 32, 33]. Esta hipótese foi primeiramente descrita por Mason [28, 34]. Os potenciais mediadores responsáveis por este efeito são GLP-1 e outros hormônios gastrointestinais distais. Esta hipótese baseia-se no fato das cirurgias de derivações gastrointestinais como a derivação duodenojejunal (DDJ), a DGYR e a DBP permitirem a presença de alimentos mal digeridos de forma precoce no intestino delgado distal. A presença destes nutrientes no íleo diminui a motilidade gastrointestinal, o esvaziamento gástrico, a velocidade do trânsito desde a boca até o ceco e, conseqüentemente, a ingestão alimentar, mecanismo denominado de freio ileal, mediado por hormônios produzidos no íleo, como o PYY e o GLP-1. Segundo esta hipótese a melhora do DM-2, após cirurgia bariátrica, está relacionada ao intestino distal e não ao intestino proximal. Esta hipótese é estudada com a interposição de um segmento ileal no início do jejuno. Alguns autores obtiveram aumento na produção de PYY e GLP-1 reforçando o mecanismo do freio ileal [1, 4, 8, 13, 26, 32, 33, 35].

Na hipótese do intestino proximal, a exclusão do duodeno e jejuno proximal do trânsito dos nutrientes pode diminuir a secreção de sinais promotores de resistência insulínica e do DM-2. Até o momento, nenhuma molécula foi identificada como responsável por estes sinais. Esta hipótese implica o envolvimento direto do intestino delgado proximal na etiologia da resistência insulínica e do DM-2 [1, 4, 8, 9, 12, 13, 26, 28, 32, 33]. O impedimento da passagem duodenal de nutrientes, com cirurgias de derivação gastrointestinal, melhora a tolerância à glicose somente em

pacientes diabéticos. Estes achados são consistentes com a possibilidade de que a derivação cirúrgica do intestino delgado proximal reverta definitivamente os mecanismos característicos dos pacientes diabéticos, mas não altere nos indivíduos normais. Portanto, o DM-2 caracteriza-se como um componente de disfunção duodenojejunal [13].

2.5 CIRURGIA BARIÁTRICA E DERIVAÇÃO GASTROINTESTINAL

A cirurgia bariátrica é classicamente indicada para indivíduos com índice de massa corporal (IMC) igual ou maior que 40 kg/m^2 ou entre 35 e 40 kg/m^2 , com comorbidade relacionada à obesidade [26]. As cirurgias utilizadas para a obesidade classificam-se em restritivas, mal absorptivas e mistas, baseadas nos mecanismos presumíveis pela perda de peso. Considera-se a DGYR como a cirurgia padrão ouro para o tratamento da obesidade mórbida, sendo a mais realizada no mundo, superando as demais operações pelos bons resultados e poucas complicações [6, 13, 26, 36, 37]. A DGYR produz do ponto de vista mecânico, restrição gástrica que induz à saciedade precoce com conseqüente diminuição do volume das refeições. Questiona-se, caso este fosse o único mecanismo responsável, se o sistema da homeostase energética provocaria um aumento compensatório na frequência e quantidade calórica das refeições, o que não ocorre após este procedimento [5, 13]. A DGYR inclui também a exclusão do trato digestório proximal, pela realização da reconstrução em Y de Roux. A associação deste fator de má absorção justifica a maior eficácia desse procedimento, quando comparado a procedimentos puramente restritivos. No entanto, a má absorção, medida pela dosagem plasmática de albumina, pré-albumina e gordura fecal é clinicamente constatada após DBP, porém não é evidente na DGYR [5]. A melhora o DM-2 é decorrente da má absorção intestinal o que provoca perda de peso, diminuição da absorção de glicose, redução do *stress* nas ilhotas pancreáticas, redução da circulação de ácidos graxos livres e melhora da sensibilidade insulínica [26].

Uma meta-análise, envolvendo 136 estudos com um total de 22.094 pacientes e focando o efeito da cirurgia bariátrica nas comorbidades da obesidade, mostrou que o DM-2 foi curado completamente em 76,8% e curou ou melhorou em 86% dos

pacientes operados [39]. O mesmo estudo demonstrou que a completa remissão do DM-2 ocorreu em 48% dos pacientes submetidos à cirurgia da banda gástrica laparoscópica, em 84% após a DGYR e superior a 95% dos pacientes submetidos à derivação biliopancreática (DBP). Na DGYR e na DBP a remissão completa do DM-2 ocorre com dias ou semanas após a cirurgia, sem que substancial perda de peso ocorra. Está descrito o caso de um paciente submetido à cirurgia de derivação gastrointestinal que no dia da cirurgia apresentava glicemia de jejum com 495 mg/dl e necessitou no transoperatório de 90 U de insulina. No dia seguinte apresentou glicemia de 281 mg/dl e necessitou de 8 U de insulina. A partir do sexto dia de pós-operatório não necessitou de terapia medicamentosa antidiabética para manter sua euglicemia com dieta normal para os próximos anos, diferentemente do que se esperava nas cirurgias abdominais de grande porte, que desenvolvem hiperglicemia com necessidade de aumentar a dose de insulina [27, 38]. As primeiras publicações sobre remissão do DM-2 após derivação gastrointestinal são da primeira metade do século XX, em cirurgias de úlcera e câncer gástricos [1]. A literatura aponta um período superior a 16 anos de controle da glicemia e normalização da hemoglobina glicosilada nessas cirurgias [1, 6, 8, 10, 26, 27, 39]. Em pacientes obesos com intolerância à glicose, a cirurgia bariátrica é capaz de diminuir o índice de progressão para o DM-2 em até mais de trinta vezes [26].

A DGYR e a DBP são as cirurgias mais eficientes tanto em relação à perda de peso como na melhora da homeostase glicêmica. Ambas excluem o intestino proximal do trânsito alimentar significando que esta região ativa do ponto de vista hormonal é importante no resultado final desses procedimentos. Deve-se considerar que os mecanismos hormonais estão envolvidos na perda de peso e no controle de doenças associadas, em especial o DM-2. A DBP tem sido descrita como procedimento mais efetivo no tratamento do DM-2 e resistência insulínica entre as cirurgias para obesidade severa. Esse procedimento cria uma maior disabsorção pelo íleo quando comparado com a DGYR, reforçando a teoria do freio ileal [7, 8, 13, 29, 40].

Nos pacientes submetidos à DGYR a mortalidade relacionada ao DM-2 foi menor quando comparados com não operados (1% contra 4,5% para cada ano do levantamento), em uma coorte com 10 anos de acompanhamento e com semelhante idade, peso e IMC [41]. Outros autores citam que a redução da mortalidade em

pacientes submetidos à derivação gastrointestinal não está limitada somente aos pacientes diabéticos [2, 27].

As cirurgias bariátricas são extremamente eficientes no controle de algumas doenças associadas à obesidade, especialmente o DM-2, promovendo a possibilidade de cura desta doença para os próximos anos. Após este tipo de operação, a resolução do DM-2 acontece precocemente, antes mesmo que ocorra grande perda de peso. Fato que pode ser explicado pelo efeito endócrino que esse procedimento produz, mesmo no período pós-operatório mais precoce. Encontram-se em centros de excelência de cirurgia bariátrica índices de mortalidade hospitalar de 0,14% e de mortalidade após 90 dias de pós-operatório de 0,35%, constatando-se que esses procedimentos têm baixa mortalidade e índices de mortalidade similares às colecistectomias [27].

A DDJ foi inicialmente utilizada em estudos clínicos para tratar o DM-2 em pacientes não obesos mórbidos e esses evoluíram com níveis normais de glicose e hemoglobina glicosilada sem alteração significativa no IMC [1, 7, 8]. Outros autores descrevem a DDJ em pacientes com IMC entre 20 e 30 kg/m², portadores do DM-2, com baixo índice de complicações e efeito antidiabético efetivo, com redução da glicemia e da hemoglobina glicosilada [10, 42]. Resultados similares foram descritos com utilização de uma prótese colocada por endoscopia mimetizando a DDJ [43]. Descreve-se também que a interposição ileal poderá ser aplicada em pacientes diabéticos com sobrepeso, isoladamente ou associada com procedimentos bariátricos restritivos, principalmente para aqueles que têm contraindicação para cirurgias de derivação gastrointestinal [28, 44]. Outros estudos também têm demonstrado remissão do DM-2 em pacientes não obesos mórbidos submetidos a cirurgias de derivação gastrointestinal [7, 10, 45].

2.6 DIETA DE CAFETERIA

A obesidade exógena é o modelo que mais se assemelha à obesidade humana, na qual é oferecido um maior aporte calórico, por uma sobrecarga de carboidratos ou de gordura, isoladamente ou em associação. Nesta dieta, denominada de dieta “ocidentalizada”, *fast food* ou dieta de cafeteria,

acrescentam-se à ração padrão substâncias altamente calóricas, como amendoim torrado, chocolate, refrigerantes, bolacha de maisena, bolo de chocolate, entre outros [15-18, 25]. Na dieta de cafeteria, produzida pela mistura de comidas consumida pelos humanos, os ratos ganham peso rapidamente e se tornam obesos. A obesidade é maior nos ratos alimentados com dieta de cafeteria, decorrente da alimentação variada e pela alta palatabilidade, quando comparados com ratos que recebem dieta hipercalórica, com sobrecarga apenas de gordura [16, 17, 46].

A dieta de cafeteria produz um incremento de peso corporal total de, aproximadamente, 30 a 40% a partir de 12 semanas de estudo, além de produzir aumento significativo na quantidade de gordura visceral associado com resistência insulínica. A manutenção da dieta de alto conteúdo calórico, por um longo período, faz que os animais, além da obesidade, desenvolvam outras comorbidades. A introdução da dieta de cafeteria, mesmo sem alteração do peso corporal, determina alterações microscópicas e macroscópicas nas vísceras abdominais; modificação na produção dos hormônios gastrointestinais; distúrbios metabólicos e bioquímicos [17].

Os modelos experimentais de resistência insulínica e obesidade são muito úteis na avaliação de aspectos fisiopatogênicos, fisiopatológicos e terapêuticos da síndrome metabólica [25]. Portanto, o modelo da obesidade, induzida pela dieta de cafeteria, é considerado o modelo ideal e necessário para analisar padrões bioquímicos, metabólicos e histológicos que ocorrem nas cirurgias bariátricas.

2.7 CIRURGIA BARIÁTRICA EXPERIMENTAL

A cirurgia bariátrica experimental tem demonstrado, nos últimos 50 anos, que estes experimentos historicamente têm como consequência a sua aplicação em humanos, desde 1953 por Richard Varco, com sua técnica da derivação jejunoileal [5].

O exato mecanismo de indução da perda de peso e sua estabilização, após as cirurgias bariátricas, ainda não estão totalmente esclarecidos em humanos. O desenvolvimento de modelos animais de obesidade, associados com intervenções cirúrgicas análogas aos procedimentos bariátricos ou metabólicos, é necessário para

elucidar estes mecanismos e o desenvolvimento de terapias para obesidade e suas comorbidades [14, 18, 25, 47-49].

Diversos estudos experimentais de cirurgia bariátrica foram descritos em ratos como a DGYR e a DBP que têm sido modelos para estudo dos mecanismos metabólicos para perda do peso, estudo dos hormônios gastrointestinais e avaliação da obesidade como uma doença inflamatória [2, 18, 40, 50-54]. O efeito da gastrectomia com a técnica de Sleeve foi metodizada e utilizada experimentalmente para avaliação metabólica e hormonal [55-57]. A cirurgia com a banda gástrica utilizando diferentes tipos de próteses foi avaliada por alguns autores. A técnica, nestes estudos, para sua execução em modelos experimentais, associa-se com a análise do efeito sobre o peso, com a alteração da mucosa esofagogástrica e com a secreção dos hormônios gastrointestinais [58-61]. Ratos Wistar foram submetidos à invaginação na parede gástrica anterior e na grande curvatura gástrica para avaliação da perda de peso. [62]. O efeito da toxina botulínica no esvaziamento gástrico e na perda de peso foi estudado em ratos obesos [63]. A atividade elétrica gástrica, após DGYR, e a avaliação dos hormônios gastrointestinais, após estímulos elétricos gástricos, foram analisadas em modelos experimentais com ratos [64, 65].

Em ratos obesos, a DGYR demonstra melhora da glicemia, insulina e triglicerídeos. Os peptídios produzidos pelo trato gastrointestinal estão envolvidos neste complexo mecanismo de estabilização metabólica e redução de peso nos modelos experimentais submetidos à cirurgia bariátrica [4, 13].

O rato *Goto-kakizaki* (G-K) desenvolvido a partir do rato Wistar no Japão tem sido muito utilizado como modelo experimental em cirurgia bariátrica. Esses ratos são portadores do DM-2, não obesos, hipoinsulinêmicos por uma diminuição na população das células β de, aproximadamente, 60% e apresentam intolerância à glicose, precocemente, com 2 semanas de vida, desenvolvendo as complicações relacionadas ao DM-2 [49]. Para demonstrar que controle do DM-2 não é devido ao tratamento da obesidade e da perda do peso, realizou-se um estudo com ratos G-K, utilizando a derivação duodenojejunal, mantendo-se o estômago intacto associado com secção ao nível do duodeno proximal e realizando-se a anastomose gastrojejunal em Y de Roux com alça biliopancreática de 8 cm, a partir do ângulo de Treitz e alça alimentar de 12 cm. Esse estudo demonstrou que a DDJ melhora dramaticamente os níveis de glicemia e tolerância à glicose, independentemente da perda de peso ou diminuição da ingesta calórica. Este foi o primeiro estudo experimental e

demonstrou que os efeitos antidiabéticos ocorrem pela derivação gastrointestinal e não apenas pela perda de peso e diminuição da ingestão calórica [4, 5, 27, 29]. Posteriormente, com o mesmo modelo experimental demonstrou-se que, após a DDJ, não há redução da absorção de carboidratos e lipídios [26]. Além desses resultados, sugere-se fortemente que o intestino proximal, prioritariamente, está envolvido na patogênese do DM-2 [6, 13]. Considerando que o intestino delgado no rato apresenta 100 cm de comprimento, a DDJ corresponderia a uma DGYR proximal em humanos com alça alimentar de, aproximadamente, 73 a 100 cm [13].

Estudos demonstram que a derivação duodenojejunal, melhora a glicemia, nos ratos obesos *Zucker* e nos ratos não obesos, *G-K*, portadores do DM-2. Quando comparados com o grupo submetido à interposição ileal, os ratos *G-K* que realizaram a DDJ apresentaram dosagem de GLP-1 significativamente menor, defendendo a hipótese do intestino distal como mecanismo principal do controle do DM-2 [9, 29, 66]. Com o modelo da interposição ileal, em ratos *G-K*, concluiu-se que a interposição ileal é efetiva em induzir melhora na tolerância à glicose, sensibilidade insulínica e função das células β , sem alterar o peso e ingesta alimentar [5, 11, 28, 44, 67, 68].

Marchesini (2007), avaliando a derivação duodenojejunal, propôs modificação nessa técnica, utilizando apenas uma anastomose duodenojejunal, término-lateral, na metade do intestino delgado, denominada de duodenojejunostomia término-lateral. Além do benefício de ser segura, de fácil execução e de baixo custo promoveria maior efeito endócrino, principalmente pela ação do GLP-1 [69].

2.8 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

São inúmeros os métodos de determinação e classificação qualitativa e quantitativa da obesidade sobre os quais se assentam todas as afirmativas e decisões terapêuticas [19]. Pela facilidade de aplicação, o índice de massa corporal (IMC) ou índice de Quetelet tornou-se de uso universal e é calculado dividindo-se o peso atual do paciente, em quilogramas, pela sua estatura elevada ao quadrado. O resultado numérico é dado em kg/m^2 . Índices considerados de magreza situam-se abaixo de $18,5 \text{ kg/m}^2$, de normalidade entre $18,5$ e $24,9 \text{ kg/m}^2$, de sobrepeso entre

25 e 29,9 kg/m² e de obesidade acima de 30 kg/m². A obesidade é considerada leve ou grau I com índices de 30 a 34,9 kg/m², moderada ou grau II de 35 a 39,9 kg/m² e grave ou grau III acima de 40 kg/m². Acima de 50 kg/m² se denomina superobeso ou hiperobesidade [70].

Uma rápida determinação da obesidade em ratos foi descrita por Lee em 1928. Consiste na divisão da raiz cúbica do peso em gramas pelo comprimento nasoanal em milímetros e multiplicado por 10. O resultado configura o índice nutritivo ou índice de Lee como mensuração de obesidade. Os resultados abaixo de 0,300 são considerados normais. Têm correlação o índice de Lee e a massa gorda. O índice de Lee pode ser usado como forma acurada e rápida, obtendo um índice de obesidade em ratos submetidos a um método de ganho de peso [71].

A associação de um índice aplicável ao modelo experimental proposto e sua relação com outros dados antropométricos como a circunferência abdominal e comprimento nasoanal e sua correspondência com os dados metabólicos torna-se necessária.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 COMITÊ DE ÉTICA E ANIMAIS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal e Aulas Práticas (CEEAAP), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), credenciado no Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sob o protocolo n° 44/09.

Ratas prenhas foram obtidas no Biotério Central da UNIOESTE e mantidas no Biotério Setorial do Laboratório de Fisiologia Humana (FIGURA 1A) desta instituição, sob condições de luminosidade (12 horas de ciclo luz /escuridão, luz das 7 horas às 19 horas) e temperatura ($26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) controladas. Ao nascimento, foi feita a sexagem dos animais e seis animais machos foram deixados com suas respectivas mães para garantir uma boa lactação, amamentação e alimentação. Após quatro semanas, foi realizado o desmame e deixados no máximo três animais por caixa (FIGURA 1B).

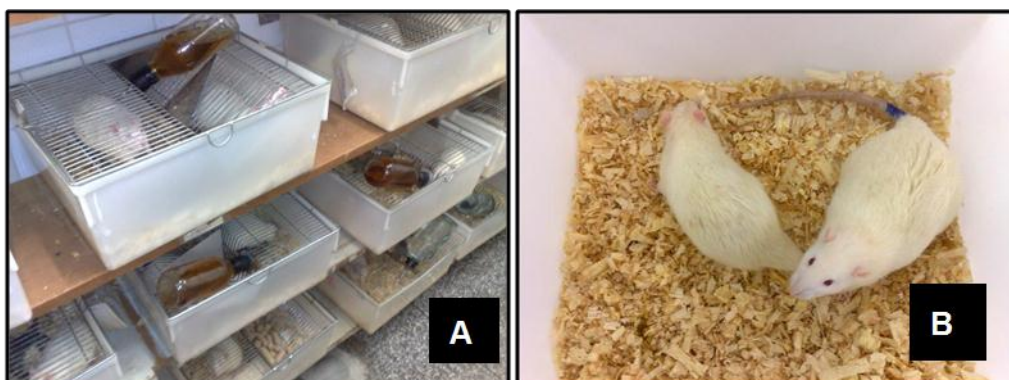


FIGURA 1 - BIOTÉRIO SETORIAL (A) E RATOS NAS CAIXAS (B).

FONTE: O autor (2009).

3.2 GRUPOS DE ESTUDO

Após o desmame, os ratos receberam dieta padrão e água *ad libitum* durante oito semanas. Ao final desse período, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: 1) Grupo controle (CON), que permaneceu recebendo dieta padrão e água, n = 10; e 2) Grupo cafeteria (CAF), que recebeu dieta de cafeteria e refrigerante, n = 47, dividido aleatoriamente em três grupos: (2a) Grupo cafeteria controle (CAF CON), n = 10; (2b) Grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal (CAF PC-DDJ), n = 15 e (2c) Grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal (CAF DDJ), n = 22.

O CAF iniciou a dieta de cafeteria com 12 semanas de idade (FIGURA 2A) e, transcorrido 32 a 34 semanas (FIGURA 2B), momento em que se encontravam com 44 a 46 semanas de idade, foram submetidos à cirurgia (FIGURA 2C). A morte ocorreu seis semanas após a cirurgia, período correspondente entre 50 e 52 semanas de idade (FIGURA 2D). O CON manteve a dieta de cafeteria até a morte, quando completou 50 a 52 semanas de idade (FIGURA 2D).

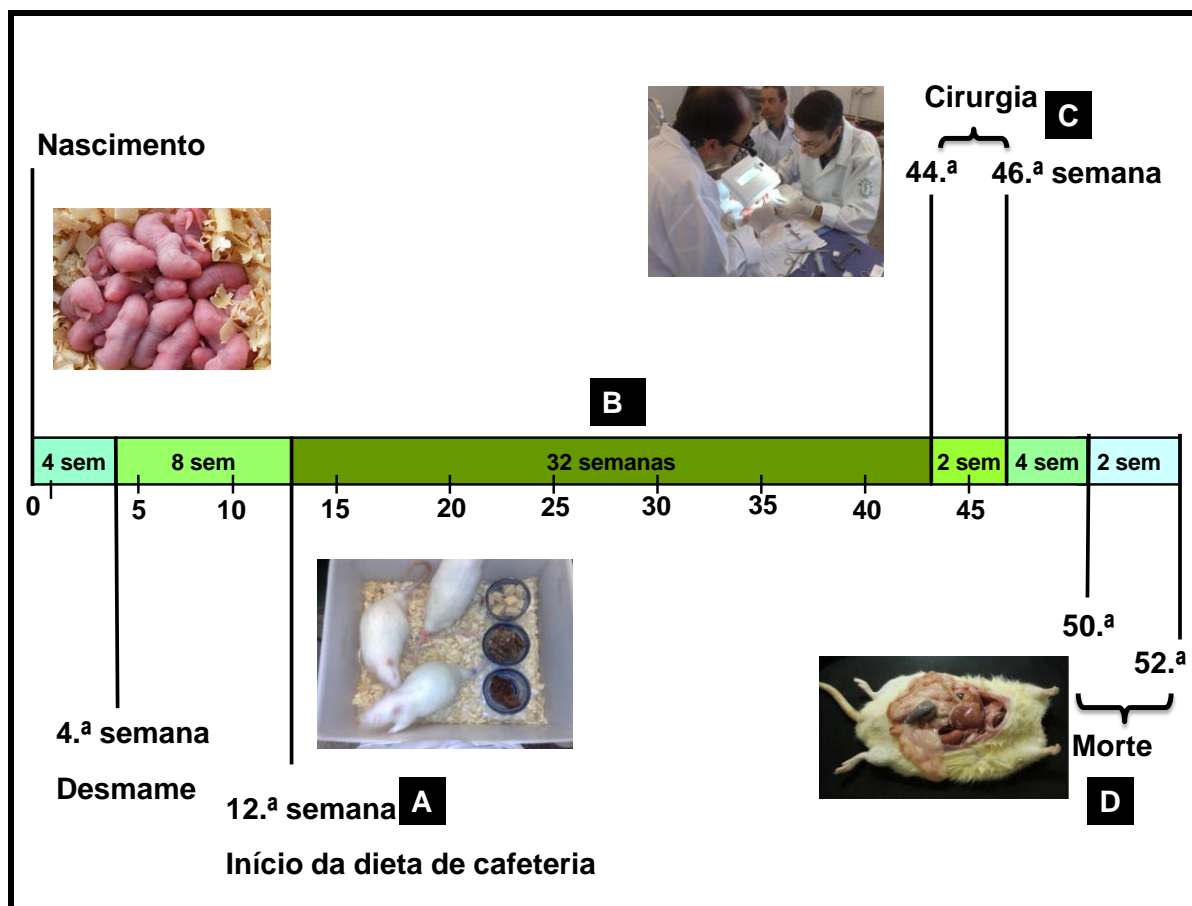


FIGURA 2 - INTERVALOS E IDADE DOS RATOS.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Início da dieta de cafeteria (A); intervalo de dieta no pré-operatório (B); idade na cirurgia (C) e idade na morte (D).

3.3 DIETAS

Os animais que receberam dieta de cafeteria foram alimentados com ração modificada em *pellets* que contêm: 37,5% ração padrão, 25% amendoim torrado, 25% chocolate em barra e 12,5% bolacha maisena. Para o preparo da ração (FIGURA 3A a 3E) foi preciso triturar todos esses ingredientes, acrescentando-se água para fazer o *pellet* e após foi desidratado em estufa (FIGURA 3F). Também foram oferecidos aos animais todos os dias alguns alimentos adicionais: biscoito *waffer* de chocolate Bauducco® (FIGURA 4A), salgadinho de bacon Frytbel® (FIGURA 4B), bolo sabor baunilha e chocolate Renata® (FIGURA 4C) e refrigerante de guaraná Antarctica® (FIGURA 5A) desgasificado (FIGURA 5B). Os alimentos

foram distribuídos em três potes de vidro fixados em uma base de vidro (FIGURA 6A a 6C) e ofertados juntamente com o refrigerante de guaraná (FIGURA 6D e 6E).

A composição das dietas e suas respectivas calorias foram: dieta de cafeteria, 5,4 kcal/g (38,5% carboidratos, 15% proteína e 46,5% gordura); dieta padrão, 3,8 kcal/g (70% carboidrato, 20% proteína e 10% gordura).

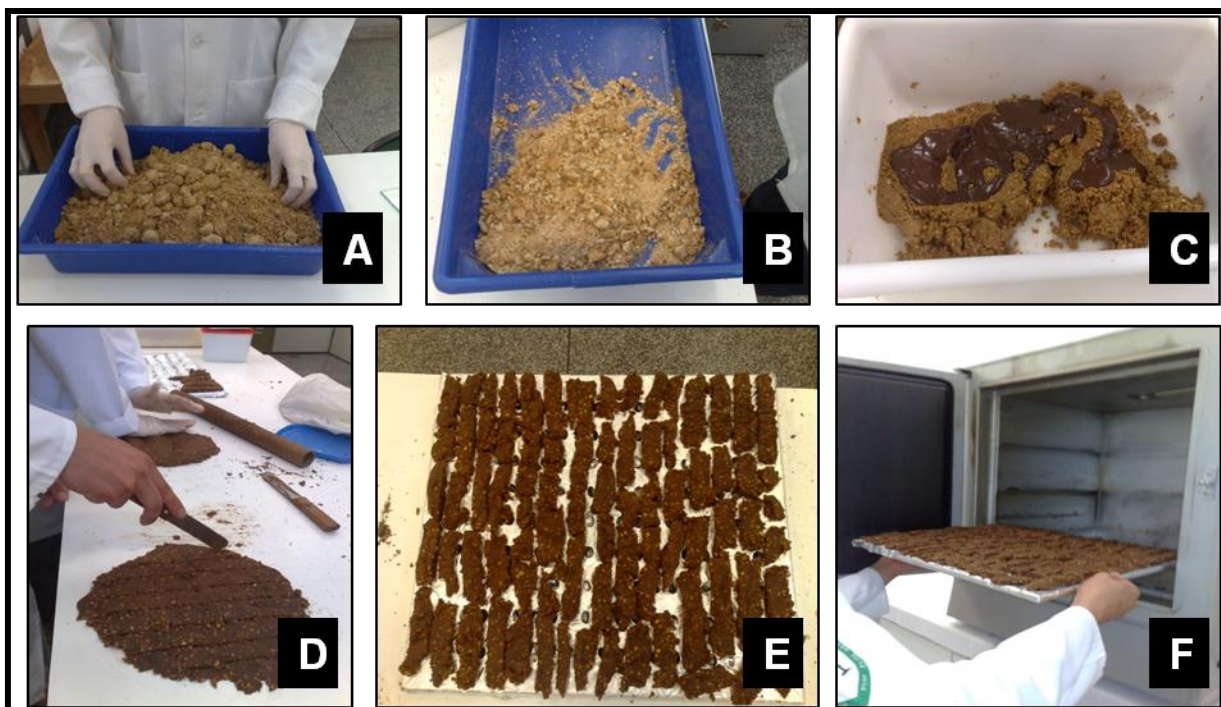


FIGURA 3 - CONFEÇÃO DOS PELLETS.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Umidificação da dieta padrão com água (A); bolacha de maisena moída (B); adicionado chocolate (C); corte em pellets (D e E); desidratação em estufa (F).



FIGURA 4 - ALIMENTOS ADICIONAIS.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: biscoito *waffer* de chocolate (A), salgadinho de bacon (B) e bolo sabor chocolate (C).

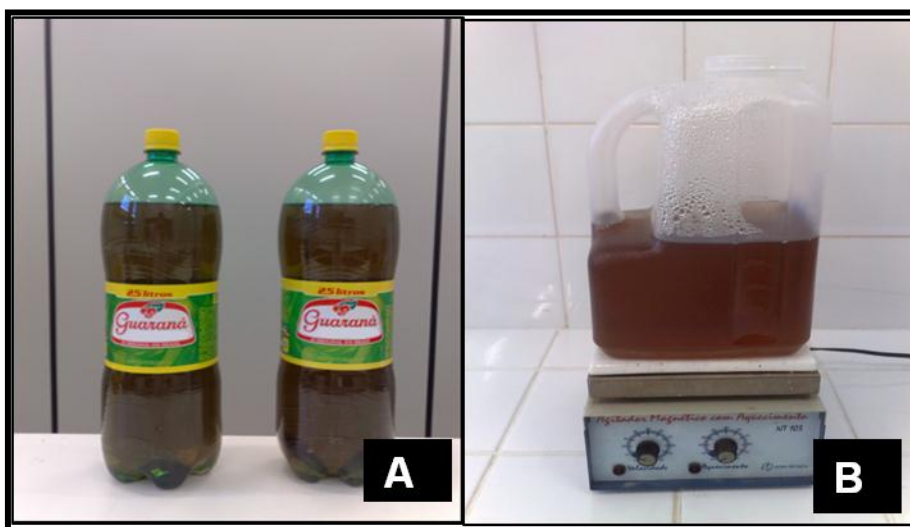


FIGURA 5 - DESGASEIFICAÇÃO DO GUARANÁ.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: O guaraná (A) é degaseificado em oscilador de mesa (B).

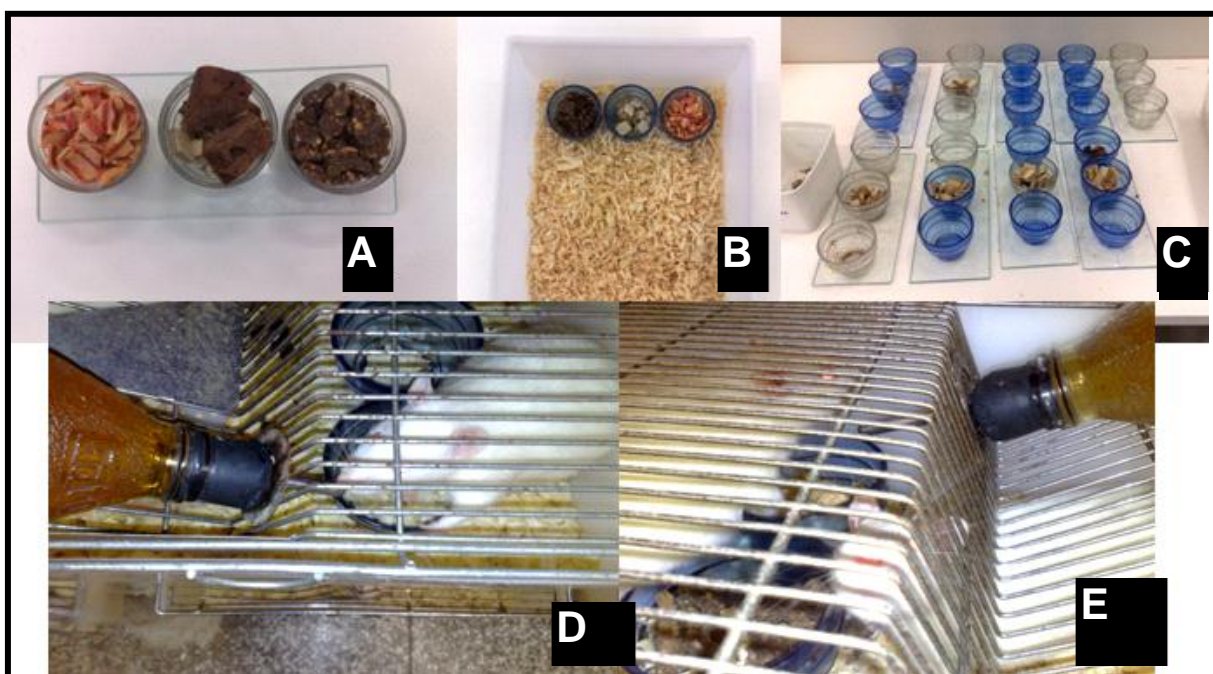


FIGURA 6 - DISTRIBUIÇÃO DA DIETA DE CAFETERIA.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: A dieta distribuída em três potes de vidro (A); fixados em base de vidro e colocados nas caixas (B); distribuição dos alimentos nos potes (C); rato tomando guaraná (D) e disposição na caixa do guaraná e potes de dieta (E).

3.4 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Os animais foram pesados semanalmente no período pré-operatório e pós-operatório. O peso corporal foi avaliado comparativamente entre os grupos e entre os membros do mesmo grupo na data do início da dieta de cafeteria, que corresponde a 12 semanas de idade, na data da cirurgia e na data da morte. Foi avaliada a área abaixo da curva (AUC) do peso corporal de 12 até 27 semanas de idade e de 28 até 43 semanas de idade para efeito de comparação entre os grupos de estudo. Na data da morte foram aferidos o diâmetro abdominal (FIGURA 7A), comprimento nasoanal (FIGURA 7B), peso corporal (FIGURA 7C) e foi calculado o índice de Lee, comparativamente entre os grupos de estudo. Este índice foi calculado dividindo-se a raiz cúbica do peso corporal (g) pelo comprimento nasoanal (cm) e multiplicando-se o resultado por 1000 (FIGURA 8).

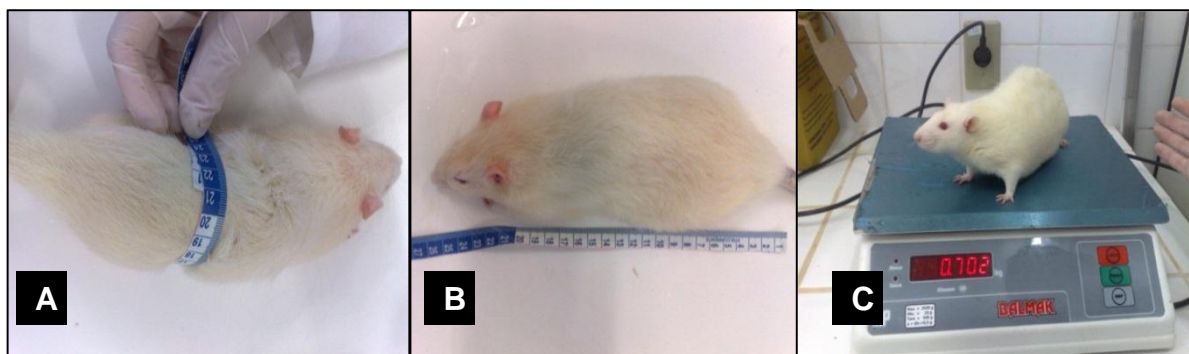


FIGURA 7 - ANTROPOMETRIA.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Circunferência abdominal (A); comprimento nasoanal (B) e peso corporal (D).

$$\frac{\sqrt[3]{P(g)}}{CNA(cm)} \times 1000$$

FIGURA 8 - FÓRMULA PARA CÁLCULO DO ÍNDICE DE LEE.

FONTE: O autor (2009).

3.5 CUIDADOS PRÉ-OPERATÓRIOS

Os animais CAF PC-DDJ e CAF DDJ receberam, uma semana antes da cirurgia, dieta de cafeteria liquidificada com guaraná (FIGURA 9A) e guaraná *ad libitum*, distribuídos em três potes de vidro fixados em uma base de vidro (FIGURA 9B).



FIGURA 9 - LIQUIDIFICAÇÃO DA DIETA.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Dieta liquidificada (A) com guaraná e colocada nos potes de vidro com base de vidro (B).

Para manter a temperatura corporal foram utilizados aquecedores, bolsas de água quente e soro fisiológico 0,9% aquecido, no período perioperatório (FIGURA 10).

Todos os animais com plano cirúrgico ficaram em jejum de 12 a 16 horas antes do procedimento. Os animais foram anestesiados com isoflurano a 1%, com intubação nasotraqueal com sonda uretral número quatro, sob oxigênio a 1l/min e em ventilação espontânea. Receberam cinco minutos antes do início da cirurgia dose única de antibioticoprofilaxia com ceftriaxona, 50mg/kg, intramuscular e analgesia com dipirona sódica na dose de 50 mg/kg, subcutâneo. Logo em seguida, foi realizada injeção subcutânea de 20 ml de soro fisiológico 0,9%, para hidratação. Técnica asséptica foi utilizada e para preparação do campo operatório e da parede abdominal, incluiu antissepsia com polivinilpirrolidona (PVPI). Somente material cirúrgico estéril foi utilizado (FIGURA 10).

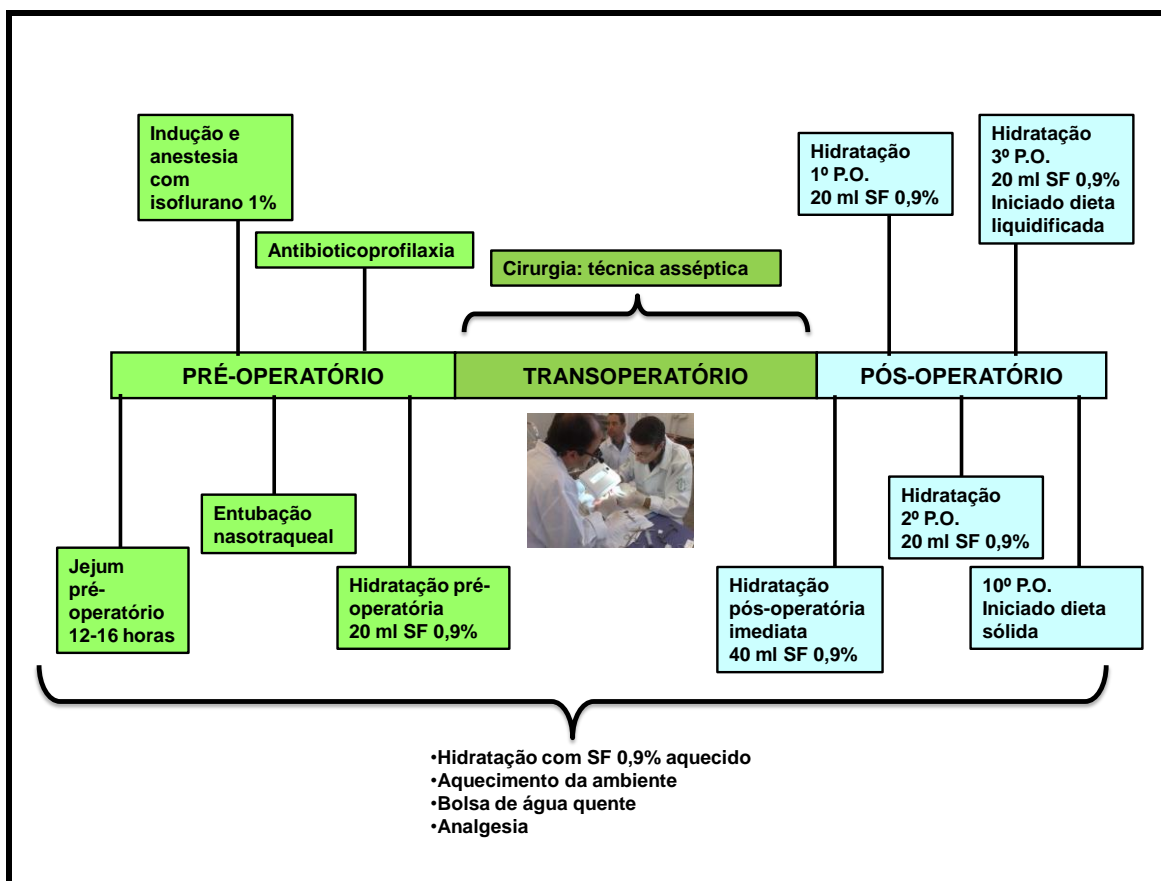


FIGURA 10 - CUIDADOS PERIOPERATÓRIOS.

FONTE: O autor (2009).

3.6 DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL (DDJ)

O abdômen foi aberto por uma incisão na linha média epigástrica de 4 cm. A transição gastroduodenal foi exposta e seccionada neste nível transversalmente. O coto duodenal distal foi suturado (FIGURA 11A-E) com fio polipropileno 7-0, com pontos separados. O jejuno foi dividido usando-se tesouras de Metzenbaum a uma distância de 10 cm distal ao ligamento de Treitz. A gastrojejunostomia (FIGURA 11A-D) foi anastomosada término-terminal, usando pontos separados, de polipropileno 7-0. A jejunajejunostomia (FIGURA 11A-H e 11B grifo amarelo) foi executada término-lateral, a uma distância de 15 cm distal da gastrojejunostomia, com pontos separados, com fio polipropileno 7-0. A alça aferente do jejuno foi de, aproximadamente, 10 cm, a partir do ligamento de Treitz, denominada como alça

biliopancreática (FIGURA 11A-G e 11B grifo branco) e a alça alimentar (FIGURA 11A-F e 11B grifo azul), entre a gastrojejunostomia e a jejunojejunostomia, tinha aproximadamente 15 cm de comprimento. A alça comum (FIGURA 11A-I e 11B grifo vermelho) esteve entre a jejunojejunostomia e a válvula ileocecal. A laparotomia foi fechada com sutura contínua, por planos, incluindo peritônio e planos aponeuróticos com fio de polipropileno 4-0. A pele foi fechada com sutura contínua, utilizando fio de poliamida 4-0.

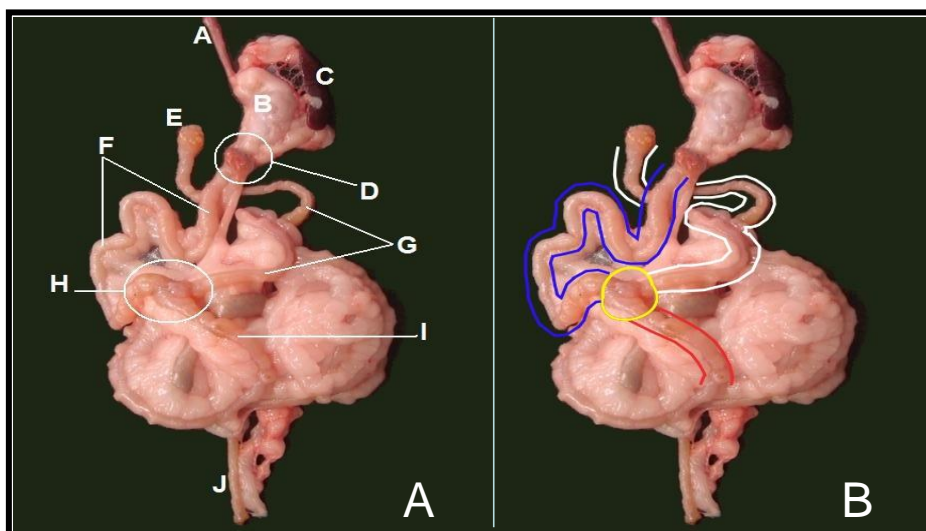


FIGURA 11 - DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: FIGURA 11A – esôfago (A); estômago (B); baço (C); anastomose gastrojejunal (D); coto duodenal (E); alça alimentar (F); alça biliopancreática (G); anastomose jejunojejunal (H); alça comum (I) e reto (J). FIGURA 11B – Alça biliopancreática (grifo branco); alça alimentar (azul); anastomose jejunojejunal (grifo amarelo) e alça comum (grifo vermelho).

3.7 PSEUDOCIRURGIA DA DERIVAÇÃO DUODENOJEJUNAL (PC-DDJ)

O abdômen foi aberto por uma incisão na linha média epigástrica de 4 cm. A transição gastroduodenal (FIGURA 12A – entre B e D) foi exposta e seccionada neste nível transversalmente e foi reanastomosada, término-terminal com fio polipropileno 7-0, com pontos separados. O jejuno foi dividido usando-se tesouras de Metzenbaum a uma distância de 25 cm distal ao ligamento de Treitz e foi reanastomosado, término-terminal com fio polipropileno 7-0, com pontos separados.

A laparotomia foi fechada com sutura contínua, por planos, incluindo peritônio e planos aponeuróticos com fio de polipropileno 4-0. A pele foi fechada com sutura contínua, utilizando fio de poliamida 4-0.

As secções e reanastomoses no trato gastrointestinal foram realizadas correspondendo às enterotomias executadas na derivação duodenojejunal, conservando o eixo gastrointestinal (FIGURA 12). Quando necessário, o tempo operatório foi prolongado para mimetizar o mesmo *stress* anestesiológico dos ratos submetidos à derivação duodenojejunal.

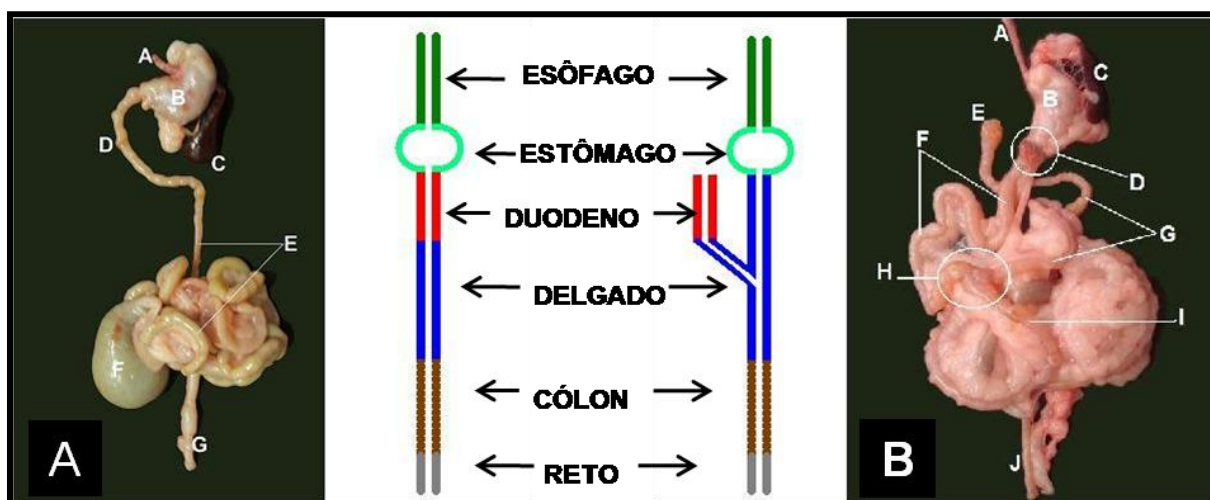


FIGURA 12 - EIXO GASTROINTESTINAL DA PC-DDJ E DDJ.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: FIGURA 12A – CAF PC-DDJ; mantendo o eixo alimentar gastrointestinal; esôfago (A); estômago (B); duodeno (D); ângulo de Treitz (C); segmento proximal a jejunojunoanastomose (E) e reto (G). FIGURA 12B – CAF DDJ, com exclusão duodenal do eixo alimentar gastrointestinal. As letras correspondem às descritas na FIGURA 11 A.

3.8 CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS

Os ratos receberam somente água *ad libitum* e não receberam dieta 24 horas após a cirurgia e nos primeiros três dias de pós-operatório. A partir daí, foi ofertada, durante sete dias, a dieta de cafeteria liquidificada com guaraná e guaraná *ad libitum*. Após este período de dez dias de pós-operatório receberam dieta de cafeteria, não liquidificada e guaraná *ad libitum* (FIGURA 10).

No pós-operatório imediato foram aplicados 40 ml de soro fisiológico 0,9% subcutâneo, para hidratação. Nos dois primeiros dias de pós-operatório foi

administrado 20 ml ou mais de soro fisiológico 0,9% subcutâneo, dependendo do grau de hidratação do rato. Foi administrado dipirona sódica na dose de 50 mg/kg, subcutâneo, uma vez ao dia durante os primeiros dois dias, para analgesia (FIGURA 10). Foram anotados o tempo operatório e as complicações pós-operatórias para comparação entre os grupos de estudo submetidos à cirurgia.

3.9 CUIDADOS COM AS DIETAS DOS GRUPOS CONTROLES

Os animais do grupo controle e do grupo cafeteria controle receberam dieta liquidificada, permaneceram em jejum e foram hidratados em períodos equivalentes aos grupos submetidos a procedimentos cirúrgicos. Os animais do grupo controle receberam dieta liquidificada com água e água *ad libitum* e o grupo cafeteria controle recebeu dieta de cafeteria liquidificada com guaraná e guaraná *ad libitum* (FIGURA 13).

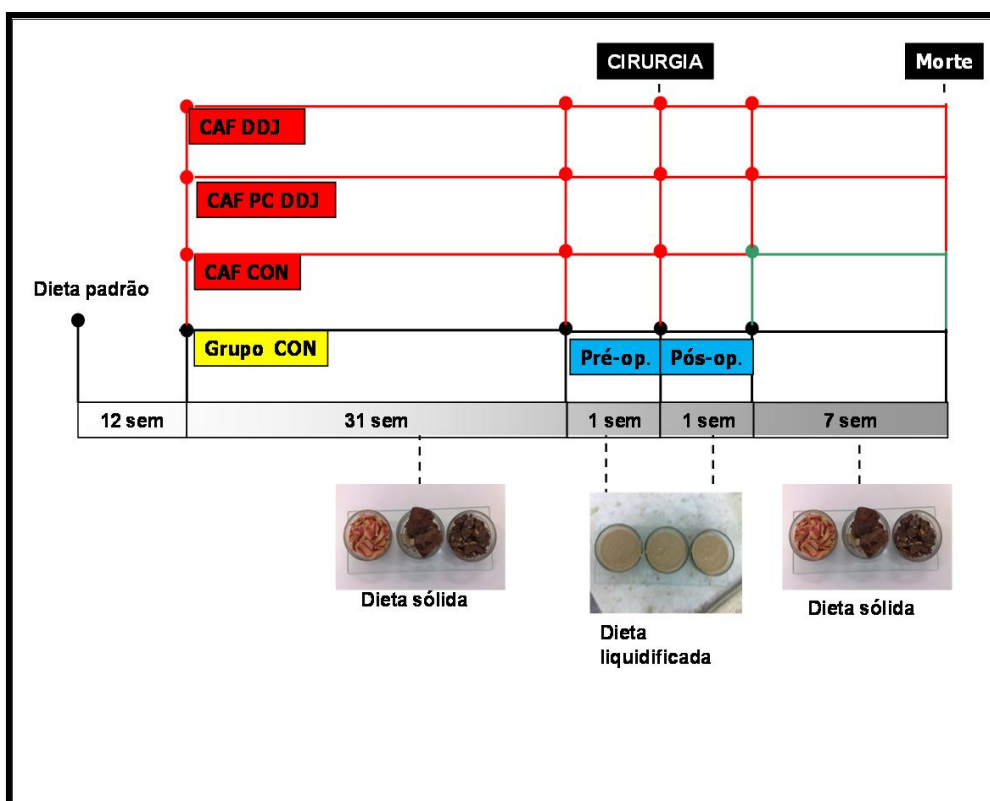


FIGURA 13 - CUIDADOS COM DIETA NO PERÍODO PERIOPERATÓRIO.
FONTE: O autor (2009).

NOTA: Todos os animais do CAF (vermelho) e do CON (amarelo) receberam dieta liquidificada no período perioperatório.

3.10 TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT)

O teste intraperitoneal de tolerância à glicose (ipGTT) foi realizado na terceira semana de pós-operatório nos grupos submetidos à cirurgia e nos períodos correspondentes nos grupos controles.

Após 12 horas de jejum, os animais foram pesados e em seguida foi realizada a coleta de sangue pela cauda para obtenção da glicemia de jejum (tempo 0) com auxílio de um glicosímetro (FIGURA 14). Após este procedimento, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de glicose na concentração de 2g/Kg de peso corporal. A comparação entre os grupos foi feita pela glicemia verificada aos 15, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos após a administração da glicose intraperitoneal e pela área abaixo da curva (AUC) do ipGTT.

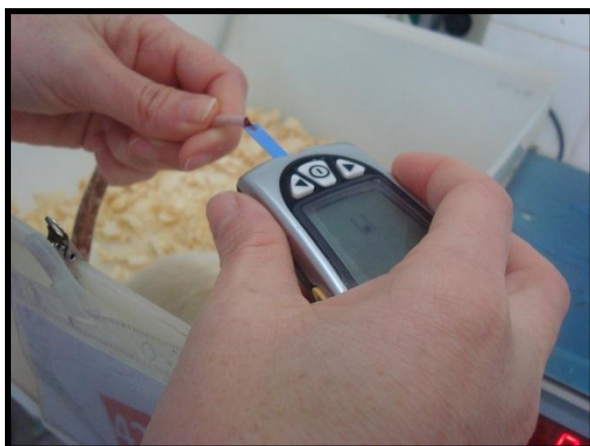


FIGURA 14 - GLICEMIA REALIZADA PELA CAUDA DO RATO.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Secção distal da cauda do rato para coleta de sangue e análise em glicosímetro.

3.11 TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À INSULINA (ipITT)

Uma semana após o ipGTT, correspondendo à quarta semana de pós-operatório, os animais foram submetidos ao teste intraperitoneal de tolerância à insulina (ipITT). Após oito horas de jejum, os animais foram pesados e em seguida foi realizada a coleta de sangue pela cauda para obtenção da glicemia basal (tempo 0) com auxílio de um glicosímetro (FIGURA 14). Em seguida, foi administrada via intraperitoneal uma injeção de insulina (1U/Kg de peso corporal) e as amostras de sangue foram coletadas nos tempos 8, 12, 16 e 20 minutos para obtenção da glicemia capilar. A velocidade constante do decaimento da glicose (K_{ITT}) foi calculada usando-se a fórmula $0.693/t_{1/2}$ para efeito de comparação entre os grupos de estudo. O $t_{1/2}$ foi calculado a partir da curva da análise dos mínimos quadrados da concentração da glicose durante a fase de decaimento linear.

3.12 MORTE

Todos os ratos foram insensibilizados em CO_2 (FIGURA 15A) e posteriormente decapitados em guilhotina (FIGURA 15B), com 50 a 52 semanas de idade, que corresponde a 6 semanas de pós-operatório. Foram anotados os achados na data da morte para comparação entre os grupos de estudo.

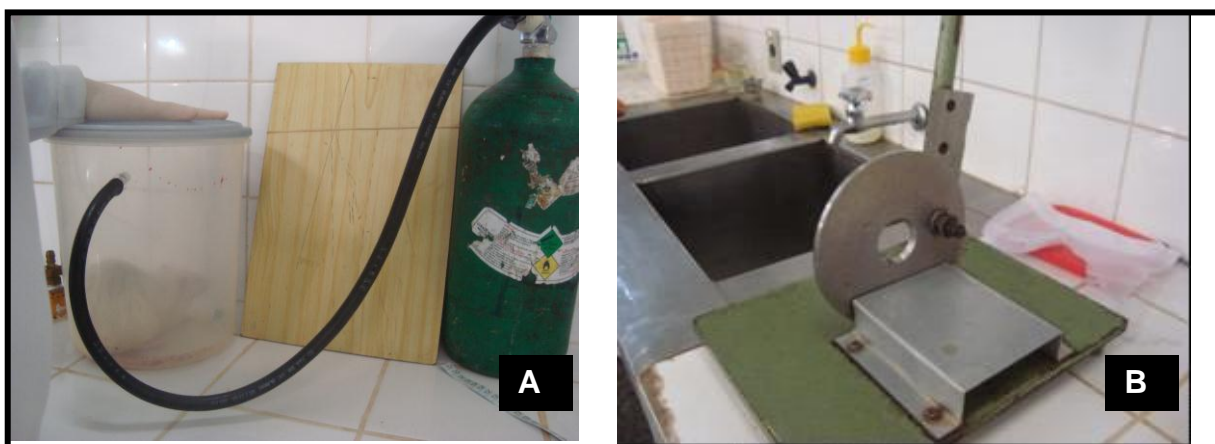


FIGURA 15 - CÂMARA DE CO_2 (A) E GUILHOTINA PARA DECAPITAÇÃO (B).

FONTE: O autor (2009).

3.13 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Na morte e após 12 horas de jejum, o sangue total foi coletado (FIGURA 16A e 16B), centrifugado (FIGURA 16C) e o plasma coletado (FIGURA 16D) para posterior dosagem dos parâmetros plasmáticos. As determinações das concentrações de glicose, colesterol total e triglicerídeos foram realizadas pelos métodos enzimático colorimétrico e o HDL-colesterol pelo método homogêneo direto. Todas as determinações foram feitas no analisador automatizado Selectra E II®, Marca Wiener®, empregando-se os reagentes da marca Kovalente®. A glicemia capilar foi verificada utilizando-se um glicosímetro (Accucheck Advantage, Roche®). A dosagem de insulina foi feita pelo método de radioimunoensaio no laboratório de pâncreas, endocrinologia e metabolismo da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), transportado em frascos com plasma congelado a -20°C. Para o cálculo do HOMA-IR foi utilizada a seguinte fórmula: $\text{insulina de jejum } (\mu\text{U/ml}) \times \text{glicemia de jejum } (\text{mmol/l}) / 22,5$. Os resultados das análises bioquímicas foram utilizados para comparação entre os grupos de estudo.

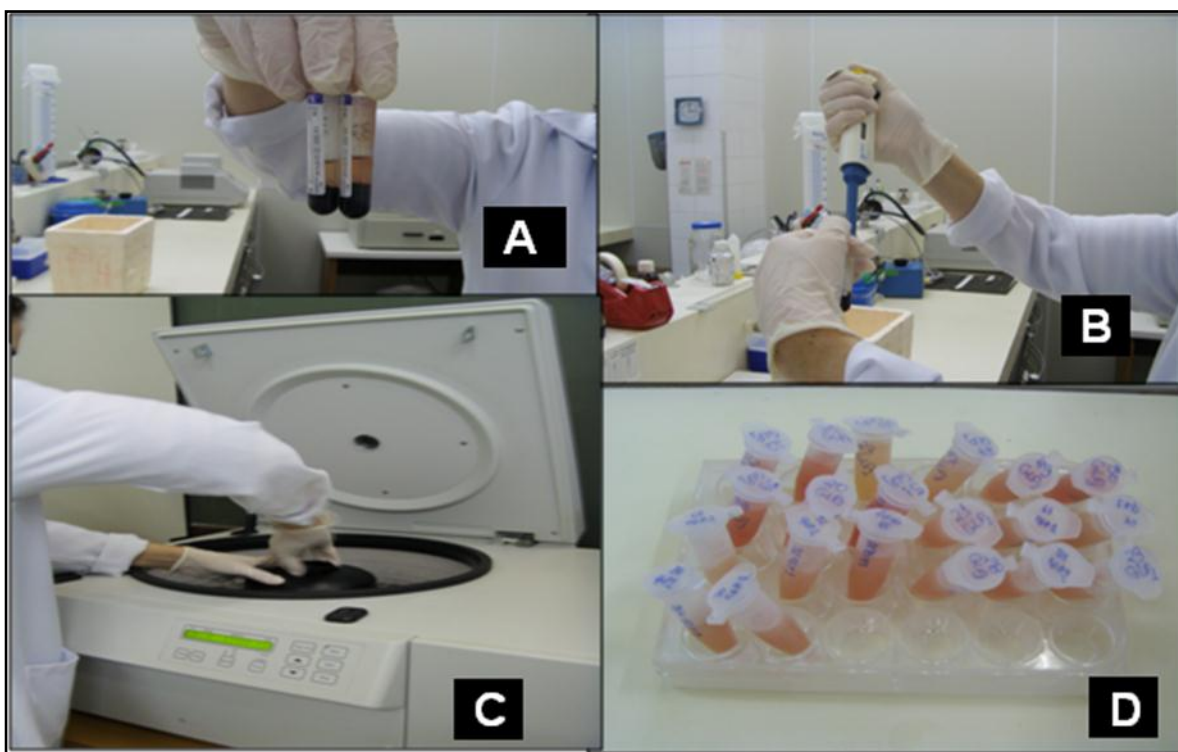


FIGURA 16 - COLETA E PREPARO DO SANGUE PARA ANÁLISE BIOQUÍMICA.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Coleta do sangue em frascos na morte (A); Aspiração do sangue (B) para colocação em frascos específicos para centrifugação (C) e separação do plasma para análise (D).

3.14 ISOLAMENTO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS, INCUBAÇÃO COM GLICOSE E DOSAGEM DA INSULINA (*IN VITRO*)

Inicialmente, foi identificada e cateterizada a via biliar extra-hepática proximal (FIGURA 17A e 17B - grifo amarelo). A via biliar distal foi clampeada (FIGURA 17A e 19B - grifo branco) e iniciada lentamente a injeção do pâncreas com solução de colagenase para identificação do tecido pancreático (FIGURA 17B – grifo branco), após a fixação do cateter (FIGURA 17A e 17B - grifo vermelho). Em seguida, o pâncreas foi ressecado (FIGURA 17C – grifo branco) e foi iniciado o processo de isolamento das ilhotas pancreáticas (FIGURA 17D).

As ilhotas pancreáticas foram isoladas pelo método da colagenase e, em seguida, coletadas em uma placa de Petri com auxílio de uma lupa (FIGURA 17D). Após, as ilhotas foram colocadas em uma placa acrílica, sendo quatro ilhotas por poço. Foi adicionado 0,5 ml de Krebs-Ringer (K-R) com pH 7.4; NaCl 120 mmol/l; KCl 5 mmol/l; NaHCO₃ 25 mmol/l; CaCl₂ 2,56 mmol/l; MgCl₂ 1,13 mmol/l e contendo 0,25% de albumina bovina, na presença de 5,6 mmol/l de glicose e, após, as ilhotas foram pré-incubadas em banho-maria a 37°C por 30 minutos na presença de carbogênio (mistura de 95% de O₂ e 5% de CO₂). Em seguida, a solução K-R foi retirada e, ao mesmo tempo, adicionado 0,5 ml de K-R com 5,6 mmol/l, 11,1 mmol/l e 22,2 mmol/l de glicose. As placas foram incubadas novamente em banho-maria a 37°C, durante uma hora, na presença de carbogênio. Terminada a incubação as placas foram retiradas do banho e colocadas sobre o gelo. Para comparação entre os grupos de estudo foram recolhidos 400 µl de solução para posterior dosagem de insulina por radioimunoensaio com 5,6 mmol/l, 11,1 mmol/l e 22,2 mmol/l de glicose, os quais representavam respectivamente equivalência à concentração basal, pós-prandial e supra-fisiológica de glicose. Após os procedimentos de incubação, o conteúdo total de insulina das ilhotas foi extraído utilizando-se solução de álcool ácido. A dosagem foi feita por radioimunoensaio e o resultado comparado entre os grupos de estudo.

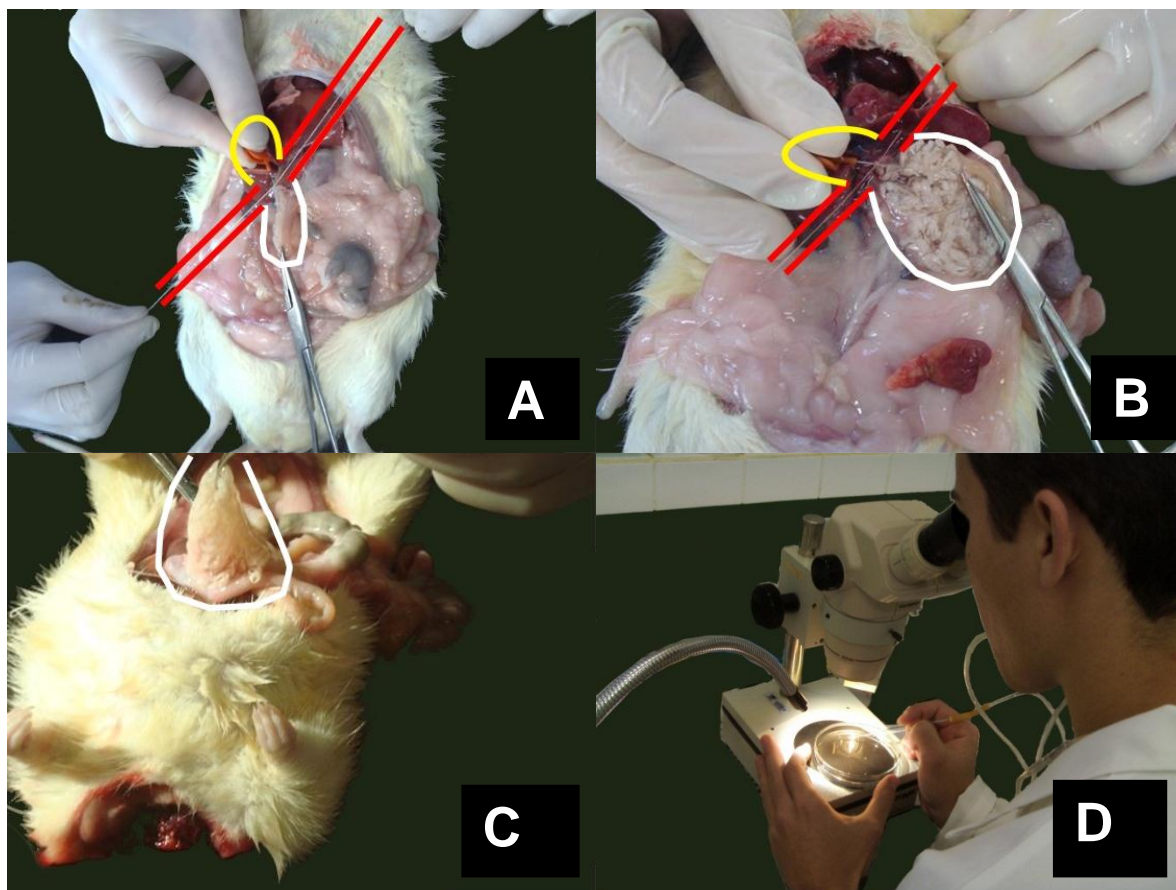


FIGURA 17 - ISOLAMENTO DO PÂNCREAS NO RATO.

FONTE: O autor (2009)

NOTA: Cateterização da via biliar proximal (A); fixação do cateter (B); clampeamento da via biliar distal com pinça hemostática (B); injeção do pâncreas com collagenase (C) e ressecção para isolamento das ilhotas pancreáticas (D).

3.15 AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO DO FÍGADO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL E DOSAGEM DA GORDURA HEPÁTICA

Após a avaliação da porcentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal, aproximadamente 500 mg do fígado foram removidos e estocados a -20°C , para dosagem de gordura hepática e posterior comparação entre os grupos de estudo (FIGURA 18). O tecido foi descongelado e macerado com Politron. Em seguida, foi adicionado o equivalente a vinte vezes o peso do tecido de solução clorofórmio/metanol (Método de Folch) na proporção de 2:1. Os tubos foram deixados em repouso, durante o período noturno, à temperatura ambiente, para extração da gordura hepática. No dia seguinte, o extrato foi filtrado em papel filtro,

em frascos previamente pesados, os quais foram secados sob uma atmosfera de N₂. A quantidade de gordura extraída foi determinada gravimetricamente para comparação entre os grupos de estudo.

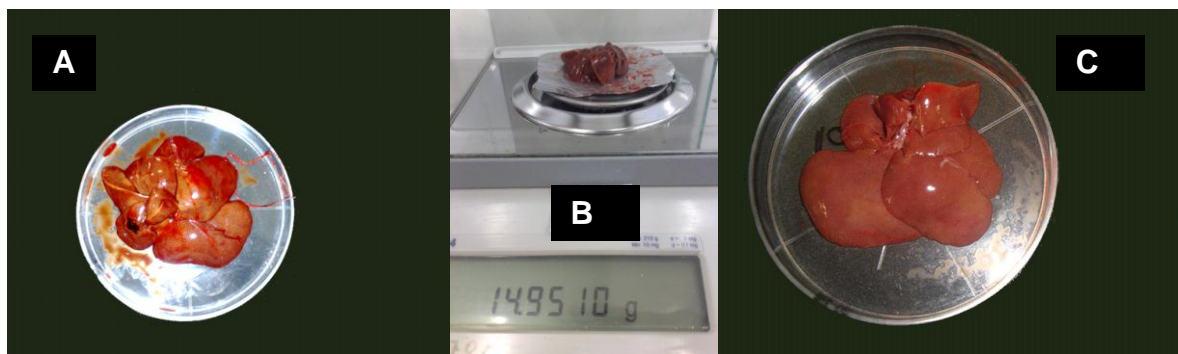


FIGURA 18 - FÍGADO EXTRAÍDO DO GRUPO CAF (A) E DO GRUPO CON (C); PESAGEM EM BALANÇA DE PRECISÃO.

FONTE: O autor (2009).

3.16 RESSECÇÃO DA GORDURA RETROPERITONIAL E DA GORDURA PERIGONADAL E AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL

A gordura retroperitoneal e gordura perigonadal foram individualizadas (FIGURA 19A), ressecadas (FIGURA 19B) e foi avaliada a porcentagem do peso em relação ao peso corporal na data da morte. Esses dados foram comparados entre os grupos de estudo.

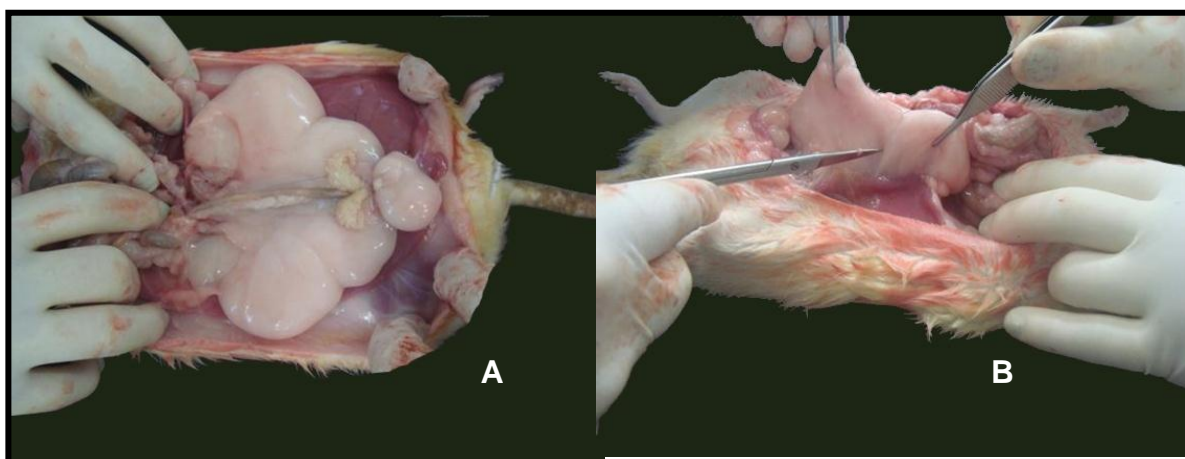


FIGURA 19 - IDENTIFICAÇÃO (A) E RESSECÇÃO DA GORDURA RETROPERITONIAL (B)
FONTE: O autor (2009).

3.17 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Para avaliação estatística foi utilizada a análise de variância (ANOVA). Quando f foi significativo, as diferenças entre as médias foram avaliadas com valor de p corrigido para Bonferroni. O valor de $p < 0,05$ foi adotado como critério de significância.

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL ENTRE OS GRUPOS

O peso corporal do CAF CON com 12 semanas de idade foi menor em relação ao CON. Na data da cirurgia e na data da morte o peso corporal do CAF CON foi maior em relação ao CON. Durante todo o experimento, não houve diferença do peso corporal, entre o CAF DDJ, CAF PC-DDJ e CAF CON (TABELA 1 e GRÁFICO 1).

TABELA 1 - AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL, ENTRE OS GRUPOS, COM 12 SEMANAS DE IDADE, NA DATA DA CIRURGIA E NA DATA DA MORTE

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
Peso 12 semanas	389 ± 4,0*	358 ± 5,2	357 ± 3,6	367 ± 3,7
Peso cirurgia	491 ± 5,9*	583 ± 17	591 ± 11	570 ± 16
Peso na morte	488 ± 6,2*	607 ± 21	617 ± 19	553 ± 23

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM, em gramas. (*) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

Avaliando a área abaixo da curva (AUC), do peso corporal, desde a semana 12 até a semana 27, não houve diferença entre o CAF CON e o CON. No período de 28 a 43 semanas de idade, a AUC do peso corporal do CAF CON foi maior quando comparada com o CON. Nesses dois períodos, este parâmetro foi similar entre os grupos CAF DDJ, CAF PC-DDJ e CAF CON (TABELA 2 e GRÁFICO 1).

TABELA 2 - AVALIAÇÃO DA ÁREA ABAIXO DA CURVA (AUC) DO PESO CORPORAL APÓS COMPLETAR 12 SEMANAS DE IDADE, DESDE A SEMANA 12 A 27 E DA SEMANA 28 A 43

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
Semana 12 a 27	6650 ± 100	6636 ± 130	7193 ± 321	6404 ± 122
Semana 28 a 43	6778 ± 66*	7831 ± 194	7873 ± 161	7879 ± 198

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM. (*) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

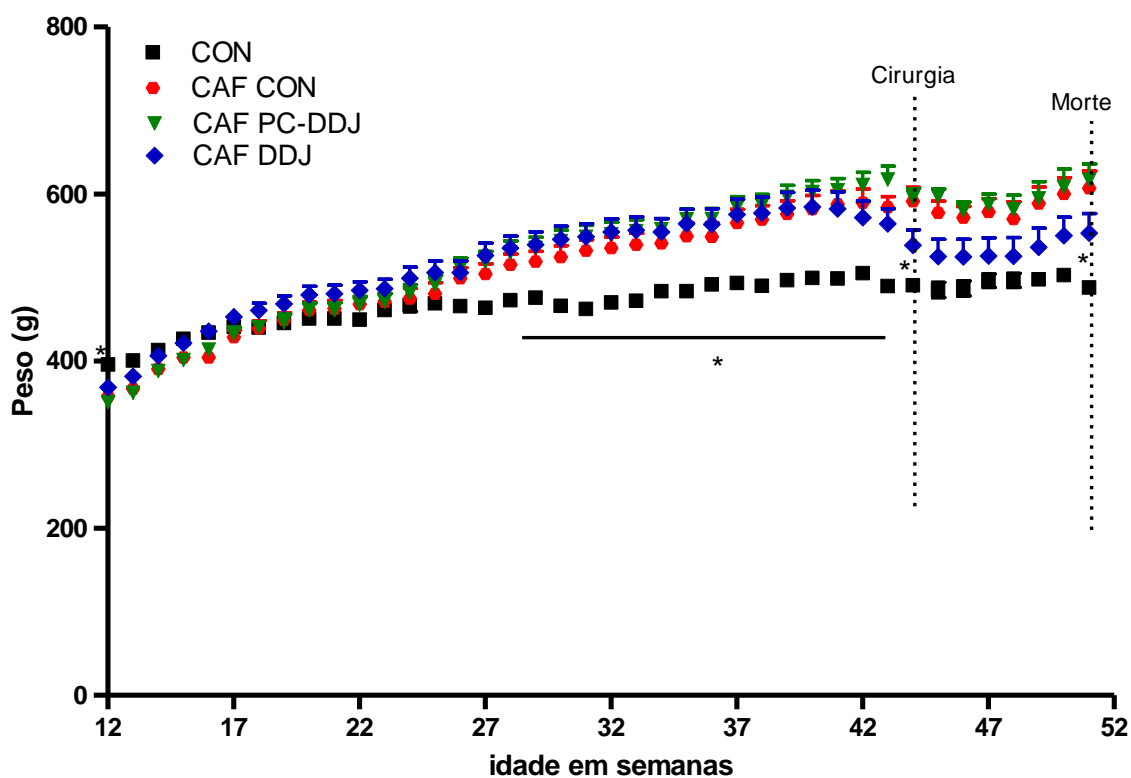


GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DO PESO CORPORAL A PARTIR DAS 12 SEMANAS DE IDADE ATÉ A DATA DA MORTE.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os pontos representam a média ± EPM, em gramas. (*) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.2 AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL ENTRE O MESMO GRUPO

O peso corporal na data da cirurgia e na morte dos animais foi maior em todos os grupos de estudo quando comparado com o peso na 12^a. semana de idade. Quando comparado o peso corporal na data da cirurgia com o peso na data da morte, não houve diferença em todos os grupos estudados (TABELA 3).

TABELA 3 - AVALIAÇÃO DO PESO CORPORAL ENTRE OS MESMOS GRUPOS COM 12 SEMANAS DE IDADE, NA DATA DA CIRURGIA E NA DATA DA MORTE

	Peso 12 semanas	Peso cirurgia	Peso morte
CON	389 ± 4,0*	491 ± 5,9	488 ± 6,2
CAF CON	358 ± 5,2*	583 ± 17	607 ± 21
CAF PC-DDJ	357 ± 3,6*	591 ± 11	617 ± 19
CAF DDJ	367 ± 3,7*	570 ± 16	553 ± 23

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM, em gramas. (*) p<0,05 – peso 12 semanas vs peso cirurgia e peso da morte. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.3 AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO

No início dessa avaliação, no tempo 0, não houve diferença da glicemia entre todos os grupos de estudo. Após 15 minutos da administração intraperitoneal de glicose, houve aumento da concentração plasmática deste açúcar em todos os grupos estudados, entretanto, a glicemia do CAF CON foi maior quando comparada com o grupo CON. A glicemia, aos 30 minutos, não apresentou diferença entre todos os grupos estudados, porém aos 60, 90 e 120 minutos, observou-se um aumento da glicose plasmática nos animais CAF CON em relação aos CON. Além disso, a glicemia dos animais CAF DDJ aos 90, 120 e 180 minutos foi menor em relação aos grupos CAF PC DDJ e CAF CON. Aos 180 minutos, a glicemia foi similar entre os

grupos CAF CON e CON (TABELA 4 e GRÁFICO 2). A AUC do ipGTT no CAF CON foi maior em relação ao CON. Os animais CAF DDJ apresentaram redução da AUC do ipGTT quando comparados com os do grupo CAF PC DDJ. Não houve diferença da AUC do ipGTT do CAF DDJ e do CAF CON (TABELA 5 e GRÁFICO 2).

TABELA 4 - AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
0 minuto	74 ± 2	73 ± 3	74 ± 3	77 ± 3
15 minutos	271 ± 14*a	372 ± 11	387 ± 26	324 ± 23
30 minutos	255 ± 11	293 ± 13	326 ± 31	308 ± 18
60 minutos	185 ± 12*a	240 ± 6	233 ± 17	209 ± 16
90 minutos	141 ± 6*a	204 ± 8	198 ± 13	153 ± 9*b
120 minutos	113 ± 6*a	173 ± 7	175 ± 15	128 ± 4*b
180 minutos	101 ± 6	128 ± 5	140 ± 9	100 ± 5*b

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM, em mg/dl. (*a) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON; (*b) $p < 0,05$ – CAF DDJ vs CAF PC-DDJ e CAF CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

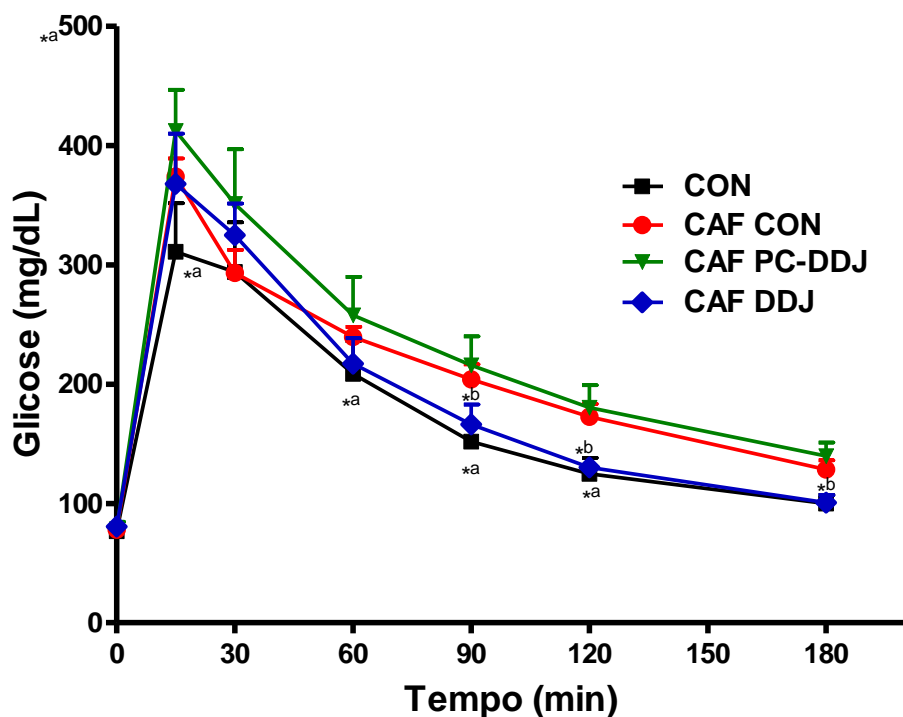


GRÁFICO 2 - AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO.

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os pontos representam a média \pm EPM, em mg/dl. (*a) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON; (*b) $p < 0,05$ – CAF DDJ vs CAF PC-DDJ e CAF CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

TABELA 5 - AVALIAÇÃO DA ÁREA ABAIXO DA CURVA (AUC) DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (ipGTT) NA TERCEIRA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
AUC do ipGTT	28298 \pm 1329 ^{*a}	37133 \pm 1053	38837 \pm 2247	32130 \pm 1367 ^{*b}

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média \pm EPM. (*a) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON; (*b) $p < 0,05$ – CAF DDJ vs CAF PC-DDJ. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.4 AVALIAÇÃO DO TESTE DE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À INSULINA (ipITT) PELA CONSTANTE DE DECAIMENTO DA GLICOSE (K_{ITT}) NA QUARTA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO

Ao avaliar a resistência à insulina pela constante de decaimento da glicose (K_{ITT}) não se observaram diferenças entre o CAF CON e CON. O CAF DDJ não apresentou diferença do K_{ITT} em relação ao CAF PC-DDJ, entretanto apresentou aumento dessa constante em relação ao grupo CAF CON (TABELA 6).

TABELA 6 - AVALIAÇÃO DO TESTE INTRAPERITONIAL DE TOLERÂNCIA À INSULINA (ipITT) PELA CONSTANTE DE DECAIMENTO DA GLICOSE (K_{ITT}) NA QUARTA SEMANA DO PÓS-OPERATÓRIO

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
K_{ITT} (%/minuto)	1,86 ± 0,29	1,82 ± 0,22	2,96 ± 0,24	3,58 ± 0,47*

FONTES: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM, em %/minuto (*) $p < 0,05$ – CAF DDJ vs CAF CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.5 TEMPO OPERATÓRIO E COMPLICAÇÕES PÓS-OPERATÓRIAS

Não houve diferença na avaliação do tempo operatório entre o CAF DDJ (70 + 2 minutos) e o CAF PC-DDJ (61 + 3). No CAF DDJ houve três óbitos nos primeiros três dias do pós-operatório por peritonite, dois por deiscência da anastomose gastrojejunal e um por oclusão da anastomose gastrojejunal com perfuração do fundo gástrico. Um rato do CAF DDJ foi excluído do estudo por apresentar fístula do coto duodenal com a anastomose gastrojejunal, constatada na morte. No CAF PC-DDJ houve três óbitos por peritonite, devido à deiscência da anastomose gastroduodenal nos dois primeiros dias de pós-operatório. Não houve diferença do número de complicações pós-operatórias entre os grupos submetidos à cirurgia.

4.6 AVALIAÇÃO DO COMPRIMENTO NASOANAL, CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL E DO ÍNDICE DE LEE NA DATA DA MORTE

O comprimento nasoanal não apresentou diferença entre os grupos estudados. Na avaliação da circunferência abdominal e do índice de Lee o CAF CON estava maior que o CON. O CAF DDJ, o CAF PC-DDJ e o CAF CON não apresentaram diferença nos valores da circunferência abdominal e do índice de Lee (TABELA 7).

TABELA 7 - AVALIAÇÃO DO COMPRIMENTO NASOANAL, CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL E DO ÍNDICE DE LEE NA DATA DA MORTE

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
Comprimento nasoanal (cm)	26,2 ± 0,2	26,1 ± 0,3	26,1 ± 0,2	25,7 ± 0,2
Circunferência abdominal (cm)	20,4 ± 0,8*	24,5 ± 0,6	24,7 ± 0,5	22,7 ± 0,6
Índice de Lee	301,0 ± 2,5*	324,3 ± 3,6	325,9 ± 3,0	317,8 ± 3,1

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM. (*) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.7 AVALIAÇÃO DA GLICEMIA DE JEJUM, INSULINA E CÁLCULO DO HOMA-IR NA DATA DA MORTE

A glicemia de jejum não apresentou diferença em todos os grupos estudados. A insulina e o HOMA-IR apresentaram valores maiores no grupo CAF CON em relação aos animais CON. O grupo CAF DDJ apresentou insulina plasmática e HOMA-IR menor em comparação com o CAF PC-DDJ e o CAF CON (TABELA 8).

TABELA 8 - AVALIAÇÃO DA GLICEMIA DE JEJUM, INSULINA E CÁLCULO DO HOMA-IR NA DATA DA MORTE

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
Glicemia (mg/dl)	129±2,7	128±4,6	143±9,3	131±4,2
Insulinemia (ng/ml)	0,4±0,04*a	1,2±0,3	1,2±0,2	0,6±0,04*b
HOMA-IR	1,4±0,2*a	10,3±0,9	5,3±1,0	2,7±0,2*b

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM. (*a) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON; (*b) $p < 0,05$ – CAF DDJ vs CAF PC-DDJ e CAF CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.8 AVALIAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL, TRIGLICERÍDEOS E HDL-COLESTEROL NA DATA DA MORTE

O colesterol e o HDL-colesterol do CAF CON apresentaram resultados menores em relação ao CON. Não houve diferença do colesterol do CAF DDJ, CAF PC-DDJ e CAF CON. As dosagens dos triglicerídeos não apresentaram diferenças entre os grupos de estudo. Não houve diferença no valor do HDL-colesterol do CAF DDJ ao comparar com o CAF PC-DDJ. O CAF DDJ apresentou valores do HDL-colesterol maiores, em relação ao CAF CON (TABELA 9).

TABELA 9 - AVALIAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL, TRIGLICERÍDEOS E HDL-COLESTEROL NA DATA DA MORTE

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
Colesterol (mg/dl)	191 ± 11*a	109 ± 5,0	108 ± 2,4	100 ± 2,4
Triglicerídeos (mg/dl)	68 ± 0,6	87 ± 8,0	70 ± 7,0	73 ± 5,0
HDL – colesterol (mg/dl)	112 ± 5,0*a	31 ± 0,7	67 ± 2,3	65 ± 1,7*b

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM. (*a) $p < 0,05$ – CAF CON vs CON; (*b) $p < 0,05$ – CAF DDJ vs CAF CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.9 AVALIAÇÃO DA INCUBAÇÃO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS COM GLICOSE E DO CONTEÚDO TOTAL DE INSULINA DAS ILHOTAS NA DATA DA MORTE (*IN VITRO*)

A secreção de insulina na presença de 5,6 mmol/l de glicose (concentração basal) não apresentou diferença entre o CAF CON e CON. Nessa concentração de glicose não houve diferença na secreção de insulina entre o CAF DDJ e o CAF PC-DDJ, porém, o CAF DDJ apresentou maior secreção de insulina em relação ao CAF CON. Quando as ilhotas foram estimuladas com 11,1 mmol/l de glicose (concentração pós-prandial), observou-se elevação da secreção de insulina no CAF CON em relação ao CON, entretanto, não houve diferença na secreção de insulina entre o CAF DDJ, CAF PC-DDJ e CAF CON. Na presença de 22,2 mmol/l de glicose (concentração suprafisiológica) a secreção de insulina pelas ilhotas foi similar entre os grupos estudados. O conteúdo total de insulina das ilhotas não apresentou diferença entre todos os grupos estudados (TABELA 10).

TABELA 10 - AVALIAÇÃO DA INCUBAÇÃO DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS COM GLICOSE E DO CONTEÚDO TOTAL DE INSULINA DAS ILHOTAS NA DATA DA MORTE (*IN VITRO*)

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
GLICOSE 5,6 (ng/ilh.h)	0,26 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,29 ± 0,04	0,37 ± 0,05 ^{*b}
GLICOSE 11,1 (ng/ilh.h)	1,05 ± 0,10 ^{*a}	2,00 ± 0,10	2,16 ± 0,18	1,80 ± 0,13
GLICOSE 22,2 (ng/ilh.h)	3,10 ± 0,36	4,51 ± 0,51	3,50 ± 0,69	3,13 ± 0,42
Conteúdo Total de insulina (ng/ilh.h)	30 ± 3,6	49 ± 4,9	50 ± 9,8	46 ± 4,0

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM, ng/ilh. (*a) p<0,05 – CAF CON vs CON; (*b) p<0,05 – CAF DDJ vs CAF CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.10 AVALIAÇÃO PORCENTAGEM DO PESO DO FÍGADO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL E DOSAGEM DA GORDURA HEPÁTICA NA DATA DA MORTE

A porcentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal não demonstrou diferença entre os grupos estudados. Na avaliação da gordura hepática, o grupo CAF CON apresentou valores superiores em relação ao CON. Não houve diferença da dosagem da gordura hepática entre o CAF DDJ e o CAF PC-DDJ. O CAF DDJ apresentou menor dosagem de gordura hepática em relação ao CAF CON (TABELA 11).

TABELA 11 - AVALIAÇÃO PORCENTAGEM DO PESO DO FÍGADO EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL E DA GORDURA HEPÁTICA NA DATA DA MORTE

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
Fígado (% peso corporal)	3,0 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,1
Gordura hepática (g)	0,64 ± 0,08*	1,80 ± 0,35	0,84 ± 0,10	1,03 ± 0,16 ^{*b}

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM. (*) p<0,05 – CAF CON vs CON; (*b) p<0,05 – CAF DDJ vs CAF CON. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

4.11 AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO DA GORDURA RETROPERITONIAL E DA GORDURA PERIGONADAL EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL NA DATA DA MORTE

O CAF CON apresentou valores maiores em relação ao CON na avaliação da gordura retroperitoneal e da gordura perigonadal. Na avaliação da gordura retroperitoneal o CAF DDJ apresentou valores menores em relação ao CAF PC-DDJ. O CAF DDJ e CAF CON não apresentaram diferença na gordura retroperitoneal. O CAF DDJ não apresentou diferença da gordura perigonadal em relação aos grupos CAF PC-DDJ e CAF CON (TABELA 12).

TABELA 12 - AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DO PESO DA GORDURA RETROPERITONIAL E GORDURA PERIGONADAL EM RELAÇÃO AO PESO CORPORAL NA DATA DA MORTE

	CON	CAF CON	CAF PC-DDJ	CAF DDJ
Gordura retroperitoneal (% peso corporal)	1,18±0,08 ^{*a}	4,98±0,27	5,59±0,30	4,30±0,16 ^{*b}
Gordura perigonadal (% peso corporal)	1,34±0,06 ^{*a}	2,63±0,13	2,74±0,11	2,32±0,12

FONTE: O autor (2009).

NOTA: Os valores representam a média ± EPM. (*a) p<0,05 – CAF CON vs CON; (*b) p<0,05 - CAF DDJ vs CAF PC-DDJ. CON - grupo controle; CAF CON - grupo cafeteria controle; CAF PC-DDJ - grupo cafeteria submetido à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal e CAF DDJ - grupo cafeteria submetido à derivação duodenojejunal.

5 DISCUSSÃO

5.1 OBESIDADE

A obesidade é provavelmente o mais antigo distúrbio metabólico, havendo relatos da ocorrência desta desordem em múmias egípcias e em esculturas gregas. A mais devastadora doença associada à obesidade é o DM-2, que afeta mais de 150 milhões de pessoas no mundo inteiro [23]. A obesidade induzida pela dieta é considerada a etiologia mais frequente nos países industrializados e urbanizados [18, 72].

A obesidade é um dos mais graves problemas da saúde pública da atualidade e deve ser considerada a mais importante desordem nutricional nos países desenvolvidos [73]. Pode-se afirmar que as tendências de transição nutricional ocorridas neste século, em diferentes países do mundo, convergem para uma dieta mais rica em gorduras, particularmente as de origem animal, açúcares e alimentos refinados com redução de carboidratos complexos e fibras, também conhecida como “dieta ocidental” ou “dieta de cafeteria” [74]. Monteiro *et al.* (1995), em estudos sobre mudanças no padrão de alimentação da população urbana brasileira, relatam a presença dessa alteração do padrão do consumo alimentar dos brasileiros desde 1962 [74].

5.2 DIETA DE CAFETERIA

A obesidade induzida pela dieta de cafeteria, utilizada neste experimento, é o modelo que melhor mimetiza a obesidade humana [15-18, 25]. A dieta de cafeteria, pela sua variedade e palatabilidade, provoca um incremento corporal, com ganho de peso e acúmulo de gordura maior quando comparadas com modelos que recebem apenas sobrecarga calórica de gordura. Essa dieta também pode ser considerada, em relação à dieta padrão, uma dieta hipercalórica, com redução dos níveis de carboidratos e proteínas e o aumento da concentração lipídica [16, 17, 46].

Entretanto, vale ressaltar que os modelos experimentais de origem genética do DM-2, resistência insulínica e obesidade não são causa de obesidade humana. Rubino *et al.* (2004, 2005, 2006) utilizaram modelos experimentais genéticos executando a DDJ para esclarecer os mecanismos fisiopatológicos das derivações gastrointestinais no controle da homeostase glicêmica. Ao utilizarmos o mesmo procedimento cirúrgico, no modelo de obesidade com dieta de cafeteria, provocamos uma alteração no metabolismo glicídico, mais aceitável para entender a homeostase glicêmica em humanos [3, 4, 11, 13, 46].

A dieta de cafeteria produziu aumento no peso corporal, na adiposidade visceral e na concentração plasmática de insulina. Além disso, os animais CAF mostraram intolerância à glicose e resistência à insulina. Martins *et al.* (2009) afirmam que os nutrientes contidos nessas dietas hipercalóricas aumentam a secreção de insulina, portanto contribuem para a intolerância à glicose, podendo até desenvolver o DM-2 em ratos Wistar [11].

A dieta de cafeteria provoca resistência à insulina em tecidos específicos, primeiramente no hipotálamo e tecido músculo-esquelético, caracterizada pela atenuação do efeito anorexígeno da insulina e redução do transporte de glicose pelo músculo e, posteriormente, no fígado, com menor supressão da produção hepática de glicose. Esta situação de alterações de sinalização no hipotálamo, músculo e fígado, porém ausente no tecido adiposo, predispõe ao desenvolvimento exagerado de adiposidade e resistência insulínica nos ratos que receberam a dieta de cafeteria [17].

Este estudo demonstrou que a dieta de cafeteria no CAF os animais desenvolveram resistência insulínica e intolerância à glicose, ao final das 38 a 40 semanas de dieta. Provavelmente, com a continuidade dessa dieta por um período maior seria possível desenvolver o DM-2 no CAF, associado com aumento das comorbidades [11].

5.3 PESO CORPORAL

Os achados deste estudo demonstram que a DDJ melhorou a homeostase glicêmica, ou seja, diminuiu a intolerância à glicose, melhorou a sensibilidade insulínica e o HOMA-IR e reduziu a hiperinsulinemia em ratos com obesidade induzida pela dieta de cafeteria, independentemente da perda do peso. O CAF, em todo o estudo, não apresentou diferença de peso nos períodos avaliados. Ocorreu perda de peso somente no período perioperatório nos grupos submetidos à cirurgia, com recuperação do peso a partir do início da dieta sólida, sendo esta retomada do peso maior entre o CAF PC-DDJ [4, 6, 11]. Portanto, o efeito no metabolismo glicídico provavelmente decorre da DDJ e não secundariamente da perda de peso. A evidência de não apresentar alteração significativa no peso entre o CAF associado com grande estoque de gordura no retroperitônio, perigonadal e no fígado exalta a efetividade da DDJ na resposta a homeostase glicêmica, porém este modelo demonstrou-se pouco eficiente no tratamento da obesidade.

Conforme consta na literatura, a atividade motora de todo o aparelho digestório e, principalmente, do intestino delgado está associado com a atividade motora cíclica iniciada no duodeno denominada de complexo motor migratório e seu correlato mioelétrico chamado de complexo mioelétrico migratório (sistema nervoso entérico intrínseco). Portanto, no pós-operatório inicial, caso fosse avaliado e fosse constatada diminuição da ingestão alimentar, nos grupos operados, CAF DDJ e CAF PC-DDJ, a explicação estaria na alteração dos mecanismos da motilidade gastrointestinal, nas alterações anatômicas, fatores hormonais e pela alteração da motilidade pela via neural extrínseca (parassimpático vago), devido a lesões de ramos do nervo vago oriundos desses procedimentos [75, 76]. Wang *et al.* (2008), utilizando ratos obesos, genéticos, avaliados no pós-operatório, além de não encontrarem em seu estudo diferença de peso entre os grupos de estudo, observaram que esses procedimentos não alteram a ingesta calórica [11].

A alteração da ingestão alimentar, após as derivações duodenojejunais, estaria sujeita a um aumento de fatores que levariam à saciedade ou à redução de fatores antisaciedade. A segunda hipótese deveria ser a predominante, pois em ratos Wistar não obesos, submetidos à DDJ, não houve mudança na ingestão alimentar, como havia ocorrido nos obesos. Estas observações sugerem que

somente no intestino de ratos obesos e hiperfágicos submetidos à DDJ, um sinal provocaria a diminuição da ingestão alimentar [3]. Portanto, deve-se considerar o trato gastrointestinal como um dos fatores importantes na fisiopatologia da fome, saciedade e da obesidade. Rubino *et al.* (2005) ainda especulam que a falência em suprimir um sinal orexígeno, originado no intestino, poderia resultar na persistência do hábito de comer, tendo com consequência balanço energético positivo, levando a um excesso de energia estocada e obesidade nos grupos no quais se mantém o trânsito duodenal [3].

A ingestão alimentar em diversos estudos tem demonstrado que não interfere no controle glicêmico e nem é responsável pela alteração do peso em ratos submetidos à derivação gastrointestinal [3, 4, 6, 13, 54]. Rubino *et al.* (2004, 2006) demonstraram que os grupos submetidos à DDJ e à PC-DDJ possuem semelhantes índices de ingestão alimentar, em ratos G-K não obesos [4, 13]. Estes pesquisadores estudaram, inclusive, um grupo com restrição alimentar que falhou em apresentar controle da glicemia com significância [4]. Em ratos Zucker obesos, a DDJ diminuiu a ingestão alimentar, quando comparados com grupo submetido a um procedimento restritivo de banda gástrica [3].

A possibilidade que o efeito da DDJ sobre a glicemia seja decorrente de má absorção intestinal não tem se apresentado consistente. Assim como neste estudo experimental, diversos outros, não evidenciaram a perda de peso, em procedimentos de derivação gastrointestinal, como mecanismo principal da estabilização do metabolismo glicídico. Rubino *et al.* (2006), para descartar a possibilidade de disabsorção nos animais submetidos à DDJ, fizeram o teste da D-xilose e a pesquisa de gordura fecal, constatando a não redução da absorção de carboidratos e lipídios [13]. Portanto, somente na teoria a DDJ poderia provocar uma má absorção de glicose que, em última análise, seria responsável pela melhora da tolerância à glicose nesses procedimentos. Porém, não explicaria como de forma global a melhora da homeostase glicêmica [6].

5.4 COMPRIMENTO NASOANAL, CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL E ÍNDICE DE LEE

Em roedores, demonstra-se que em diferentes raças, de uma mesma espécie, há uma variação na gordura acumulada, quando os animais são submetidos a uma dieta hipercalórica, devido a fatores genéticos. Assim como nos humanos, a resposta à dieta hipercalórica submete-se também ao controle genético. Enquanto alguns indivíduos são suscetíveis à obesidade, outros são resistentes [16]. Kretschmer *et al.* (2005) demonstraram que animais submetidos à dieta de cafeteria apresentam aumento do ganho de peso e massivo acúmulo de gordura [77].

Um sinalizador importante para a presença de resistência à insulina e hiperinsulinemia é o padrão central de distribuição da gordura corpórea acarretada pela dieta de cafeteria demonstrada pelo índice de Lee e pela circunferência abdominal nos grupos CAF [16, 17]. O índice de Lee e a circunferência abdominal foram parâmetros sensíveis no CAF em evidenciar a presença de gordura visceral, em especial, a retroperitoneal, a perigonadal e a hepática. Porém, a circunferência abdominal, assim como a insulinemia, a AUC do GTT e o HOMA-IR, não apresentaram diferença significativa entre o CAF DDJ e o CON, portanto demonstrou ser um parâmetro de melhor especificidade na análise da homeostase glicêmica.

Em estudos clínicos, essa avaliação é semelhante à circunferência abdominal e à relação cintura/quadril, em que também, indiretamente, estima-se a quantidade de gordura visceral, que parece ser o principal componente pró-aterogênico da adiposidade, conhecida também como “cintura hipertrigliceridêmica” e, pela hiperinsulinemia, poderia ser chamada também de “cintura hiperinsulinêmica” [78].

A avaliação da adiposidade por medidas simples, como a circunferência abdominal, apresentou-se mais importante que a avaliação análoga ao IMC, o índice de Lee, sinalizando, indiretamente, com mais precisão, as alterações no metabolismo glicídico e lipídico. Essa avaliação pode identificar o fenótipo “pró-diabetogênico” desses modelos experimentais.

Schepper *et al.* (1998) demonstraram que ratos Wistar com obesidade induzida pela dieta de cafeteria apresentam uma hiposecreção do hormônio do crescimento (GH), em relação aos animais controle e que existe uma correlação

negativa entre GH e acúmulo de gordura. Desta forma, a menor secreção do GH em ratos submetidos à dieta de cafeteria pode também explicar o maior acúmulo de gordura encontrado nestes animais, sem alteração do comprimento nasoanal [79].

5.5 COMPLICAÇÕES E CUIDADOS PERIOPERATÓRIOS

As complicações pós-operatórias foram semelhantes às encontradas na literatura, como a deiscência da anastomose gastrojejunal, a qual esteve associada com alto índice de mortalidade [9]. A morte nos três primeiros dias de pós-operatório, decorrentes de técnica cirúrgica foi aceitável, devido às dificuldades técnicas desses modelos experimentais. Não observamos diarreia, reforçando a teoria de pouca disabsorção constatada na DDJ. Wang *et al.* (2008) sugerem que a interposição ileal foi um procedimento mais seguro que a DDJ por apresentarem menores índices de complicações pós-operatórias [9]. O tempo operatório foi propositalmente semelhante nos grupos cirúrgicos, para serem submetidos ao mesmo *stress* anestésico.

Os cuidados perioperatórios de hidratação, analgesia, anestesia, dieta, jejum, aquecimento e, principalmente, treinamento da equipe, foram essenciais para um bom resultado operatório. Esses cuidados basearam-se no estudo de Meguid *et al.* (2004), no qual metodizaram os cuidados perioperatórios para cirurgias de derivação gastrointestinal, em ratos, diminuindo dessa maneira a mortalidade alta desses procedimentos experimentais complexos [18, 80, 81].

5.6 HOMEOSTASE GLICÊMICA

A melhora da tolerância à glicose, induzida no DDJ, foi registrada em dois momentos: primeiramente no período precoce do pós-operatório de 21 dias com redução da AUC na avaliação do ipGTT; posteriormente em um período mais tardio, aos 42 dias de pós-operatório com diminuição da resistência insulínica e aumento da sensibilidade insulínica encontrados nos animais submetidos à DDJ, semelhante a

outros estudos experimentais [3, 4, 13]. Contrariamente, Pacheco *et al.* (2007), utilizando ratos G-K não encontraram alteração na resistência insulínica mensurada pelo HOMA-IR [6]. Em estudos clínicos, as cirurgias de derivação gastrointestinal, em pacientes obesos mórbidos, curam o DM-2 ou melhoram a tolerância à glicose, na maioria dos casos [33, 82]. Wang *et al.* (2008), utilizando ratos obesos genéticos, submetidos à DDJ, apresentaram aumento da insulina, diferente dos demais estudos citados [9]. Entretanto, estes dados não refletiram uma piora de resistência insulínica e sim uma melhora metabólica, por se tratarem de animais que possuem reservas baixas de insulina. Este aumento poderia ser um indicador de recuperação da produção de insulina. Portanto, estas variáveis são decorrentes dos modelos genéticos escolhidos por alguns autores, aumentando as limitações desses resultados na prática clínica [3, 4, 9, 13].

A tolerância à glicose pode ser decorrente da resistência à insulina e/ou de uma alteração na secreção deste hormônio. Observou-se pelo HOMA-IR que os animais CAF são resistentes à insulina e que a DDJ reduz esta resistência. Ao avaliar a secreção estática de insulina, pela metodologia descrita por Salerno *et al.* (2007), observa-se que na presença 5,6 mmol/l de glicose, considerada concentração basal de insulina, a dieta de CAF não alterou a secreção, porém a DDJ provocou um aumento de 83% na secreção deste hormônio, em relação aos animais CAF. Na presença de 11,1 mmol/l de glicose, considerada concentração pós-prandial, observou-se aumento na secreção de insulina nos grupos CAF. Essa diferença não foi decorrente de uma hiperplasia e/ou hipertrofia das ilhotas pancreáticas, pois se observou que o conteúdo de insulina das ilhotas foi similar em todos os grupos estudados. Conforme relatado por Ktretschemer *et al.* (2005), a dieta de cafeteria provoca aumento da secreção de insulina estimulada pela glicose [83]. Estudos utilizando a GLP1 mostram uma melhora da secreção de insulina em resposta à glicose, reforçando o envolvimento desse hormônio na melhora do metabolismo da glicose [44].

A melhora da ação da insulina, após DDJ, tem sido relatada com potencial relevância terapêutica, como em estudo, utilizando um hipoglicemiante oral, a rosiglitazona, que tem eficácia comprovada em estudos clínicos e experimentais no tratamento do DM-2, a DDJ foi superior no controle da glicemia de jejum e na melhora da ação insulínica em relação à utilização desse medicamento [4, 9].

Conforme encontrado nos grupos CAF CON e CAF PC-DDJ, o nível de insulina e o HOMA-IR foram mais elevados em relação ao grupo CON, demonstrando que a dieta de cafeteria foi efetiva em induzir a resistência à insulina. A dosagem da insulina de jejum tem sido apontada como um método simples para a avaliação da sensibilidade à insulina no organismo como um todo. Em modelos resistentes à insulina, as concentrações plasmáticas de jejum estão elevadas e se correlacionam com a intensidade da resistência insulínica determinada pelo *clamp* euglicêmico hiperinsulinêmico, sendo este, considerado o “padrão-ouro”, para avaliação da resistência insulínica. A avaliação da resistência insulínica por métodos sofisticados como o *clamp* não está disponível para a maioria dos investigadores. Estes métodos requerem muito tempo, tanto do modelo experimental quanto do pesquisador. Sob esta argumentação, foi desenvolvido um modelo matemático que prediz a sensibilidade à insulina pela simples medida da glicemia e insulina de jejum, o HOMA-IR. Portanto, o HOMA-IR utilizado neste estudo prediz uma insulinemia e glicemia para uma dada sensibilidade e capacidade de secreção de insulina [84, 85].

O CAF DDJ, assim como apresentou redução da resistência insulínica, apresentou um aumento da sensibilidade insulínica pela avaliação da resistência insulínica pela constante de decaimento da glicose, o K_{ITT} . A primeira técnica desenvolvida para avaliar a sensibilidade à insulina de forma direta *in vivo* foi o teste de tolerância à insulina. O método utilizado consistiu na injeção de insulina regular, sendo avaliada a taxa de decaimento da glicose ao longo de 15 minutos, após a injeção de insulina, nos grupos de estudo. Esta queda da glicose foi determinada por dois fatores: supressão da produção hepática de glicose e pelo estímulo à captação de glicose pelos tecidos insulino-sensíveis. A interpretação do K_{ITT} se baseou em quanto mais rápida e intensa for a queda da glicose mais sensível à insulina foi o grupo de estudo. O índice correspondeu à queda da glicose expressa em %/minuto. Quanto maior o K_{ITT} , maior a sensibilidade à insulina [84].

Neste estudo, a DDJ, melhora a tolerância à glicose e diminuiu a resistência à insulina, em ratos Wistar com obesidade induzida pela dieta de cafeteria. A secreção de insulina foi ajustada continuamente, de acordo com as flutuações dos níveis de nutrientes circulantes, em especial, a glicose. A secreção também é modulada, direta ou indiretamente, por hormônios, neurotransmissores e agentes farmacológicos. Esse controle multifatorial permite que as células β secretem insulina em quantidade e tempo adequados, regulando a concentração de nutrientes

no sangue em diferentes situações fisiológicas, como jejum, refeição, exercício físico, gravidez, lactação, entre outras [86]. Qualquer alteração neste fino controle pode levar à instalação da intolerância à glicose e ao DM-2.

5.7 METABOLISMO LIPÍDICO

Os procedimentos cirúrgicos foram fatores protetores para a dislipidemia em relação ao HDL-colesterol, apesar dos valores apresentarem-se 50% inferiores, em relação ao CON, a surpresa foi o grupo PC-DDJ ter tido resposta semelhante ao grupo DDJ. O colesterol e os triglicerídeos não apresentaram alteração no grupo cafeteria. Entretanto, na avaliação da gordura hepática a cirurgia foi fator de melhora deste índice com redução do nível de gordura e surpreendeu novamente o PC-DDJ ter apresentado estes índices reduzidos, também em relação ao CON. Contrariamente, Rubino *et al.* (2004) e Wang *et al.* (2008) observaram melhora do metabolismo lipídico somente no DDJ, em ratos DM-2 e não obesos [4, 9]. Arahamiam *et al.* (2007), utilizando ratos com dieta hiperlipídica, ao analisar os triglicerídeos e colesterol total, estes apresentaram melhora após derivação gastrointestinal e houve uma diminuição do HDL-colesterol, resultados diferentes ao encontrado neste estudo [51]. Portanto, o metabolismo lipídico está sujeito às variáveis da espécie do rato e ao meio ao qual foi exposto com os diferentes tipos de dieta.

A má absorção de gorduras poderia ser um fator isolado para explicar o controle do DM-2 em ratos obesos. Esta possibilidade foi derrubada, por Rubino *et al.* (2004) que, ao realizarem a DDJ e a PC-DDJ, em ratos DM-2, com níveis normais de lipídios, obtiveram melhora do metabolismo glicídico somente no DDJ, demonstrando, como ocorreu neste estudo, que a melhora da sensibilidade insulínica, leva a uma melhora também do metabolismo lipídico. Outra explicação seria pela possibilidade da diminuição de ácidos graxos livres resultarem em um aumento da oxidação de gordura, em nível intracelular, induzidas pela leptina [4].

A leptina é expressa e secretada pelo tecido adiposo branco, circulando no plasma em concentrações proporcionais à massa de gordura corpórea. A administração central e periférica de leptina em roedores leva à redução na

alimentação e ao aumento no gasto energético, com redução no peso corpóreo. No SNC, as ações neuroendócrinas da leptina são mediadas pelo hipotálamo [78]. Portanto, a insulina pode agir de forma sincronizada com a leptina, preenchendo a função de um sinal do grau de adiposidade existente. Os níveis basais de insulina têm boa correlação com os índices de adiposidade e a infusão central de insulina reduz a ingestão calórica em animais [87]. No desenvolvimento do DM-2, o tecido adiposo atua aumentando a demanda por insulina e criando resistência a esta, o que ocasiona aumento na glicemia e consequente hiperinsulinemia. Contudo, a sensibilidade do tecido adiposo à insulina pode permanecer alta, o que sugere que a lipogênese possa estar favorecida. Em alguns casos, essa resistência pode ser atribuída à diminuição na concentração de receptores de insulina ou à falha no mecanismo de trânsito celular [88]. Portanto, concordamos com Rubino *et al.* (2006) quando teorizam a possibilidade da melhora do metabolismo lipídico ser pela melhora da sensibilidade insulínica secundariamente a outros fatores endócrinos provocados pela DDJ [13].

Defeitos hipotalâmicos na sinalização de insulina, tal como ocorre com a leptina, causam aumento do consumo alimentar e adiposidade, explicando a maciça adiposidade encontrada no CAF. Estudos recentes mostraram a existência de uma via de sinalização comum, denominada de *cross talk*, entre os sinais hipotalâmicos da leptina e da insulina [6, 78].

Em humanos, sabe-se que as alterações no metabolismo de lipídio, principalmente pela disponibilização de altos níveis de ácidos graxos livres induzem à resistência insulínica e sua diminuição à melhora da sensibilidade insulínica, principalmente nos portadores de dislipidemias [9, 13].

5.8. CIRURGIA BARIÁTRICA EXPERIMENTAL

O exato mecanismo da indução da perda de peso e sua estabilização após as cirurgias bariátricas ainda não estão totalmente esclarecidas em humanos. O desenvolvimento de modelos animais de obesidade associado com intervenções cirúrgicas análogas aos procedimentos bariátricos ou metabólicos são necessários para elucidar estes mecanismos e o desenvolvimento de terapias para obesidade e

suas comorbidades [14, 18]. Existe, principalmente, a necessidade de experimentos com modelos animais de obesidade não genéticos para melhor esclarecer os mecanismos fisiopatológicos dessas cirurgias [89].

O modelo experimental, utilizando a DDJ, foi idealizado e descrito pela primeira vez por Rubino *et al.* (2004), em ratos G-K, não obesos e portadores do DM-2, posteriormente os mesmos autores adotaram este modelo, em 2005, em ratos Zucker, obesos, resistentes à leptina, insulinoresistentes e hiperfágicos e Rubino *et al.* (2006) tornam a utilizar o mesmo modelo experimental de 2004, em ratos G-K, associando uma gastroenteroanastomose [3, 4, 13].

Nesta intervenção cirúrgica, utilizamos o mesmo tamanho de alça alimentar (15 cm) e alça biliopancreática (10 cm) utilizadas por Rubino *et al.* (2005,2006), que diferiu um pouco do seu estudo, apresentado em Rubino *et al.* (2004). Considerando, que o intestino delgado do rato apresenta, aproximadamente, 100 cm de comprimento, esta cirurgia representou o BGYR proximal, em humanos [3, 4, 13].

Xu *et al.* (2002) extrapolam temporalmente a avaliação do período de estudo em ratos em relação aos humanos, dando um intervalo dez dias para os ratos, o equivalente ao período de um ano para os humanos [90]. Portanto, ao utilizar esta teoria, estaríamos estudando indivíduos que foram expostos à dieta de cafeteria dos 8 aos 30 anos de idade, quando então foram submetidos à cirurgia e suas avaliações ocorreriam após 2 e 4 anos da cirurgia. Aprahamian *et al.* (2007) fazem a equivalência da idade de 8 dias no rato com 8 a 9 meses no ser humano [51].

5.9 DERIVAÇÃO GASTROINTESTINAL

5.9.1 Hipótese do Intestino Proximal

Um dos pontos principais deste estudo foi avaliar se a exclusão duodenal em ratos submetidos à dieta de cafeteria, independentemente da perda do peso, foi responsável pela homeostase glicêmica [4]. Pories *et al.* (1995) foram os primeiros a teorizar que mecanismos endócrinos seriam responsáveis pela cura do DM-2, em pacientes submetidos à DGYR [82]. Esta teoria é baseada nas alterações

decorrentes de modificações no eixo gastrointestinal ou também citadas como eixo enteroinsular provocadas nas derivações gastrointestinais [35]. Em revisão realizada por Rubino e Gagner (2002), intitulada *Potential of Surgery for Curing Type 2 Diabetes Mellitus*, os autores sugerem que na DGYR e na DBP, que possuem em comum a derivação duodenal e jejunal proximal, o controle do DM-2 ocorre primariamente, independentemente do efeito da cirurgia sobre o peso [33].

Diversos estudos clínicos, randomizados, de gastrectomia com exclusão duodenojejunal e com preservação da passagem duodenojejunal, para câncer e úlcera péptica, em pacientes diabéticos e não diabéticos descreveram uma melhora na tolerância à glicose, tendo como resultado a diminuição dos níveis de insulina, como o ocorrido na de cirurgia bariátrica com exclusão duodenal [1, 8]. Os resultados deste estudo reforçaram a possibilidade que a derivação do intestino delgado proximal reverta mecanismos hormonais desse segmento do intestino e reduza a tolerância à glicose, caracterizando a intolerância à glicose como uma disfunção duodenojejunal. Os objetivos deste e de outros estudos foram definir a real causa da melhora da glicemia nos procedimentos de derivação gastrointestinal e o segmento anatômico responsável por este resultado.

A hipótese de que o intestino proximal predomina no efeito endócrino em derivações gastrointestinais tem sido amplamente suportado pela literatura. Em humanos, a derivação gastrointestinal, provoca alterações hormonais substanciais, incluindo o aumento de GLP-1 e diminuição da insulina, leptina e GIP, muito antes que ocorra alteração do peso corporal [1, 4, 8, 12, 13, 26, 28, 32, 33, 37]. Outros autores defendem a hipótese do intestino distal, pela grande produção de GLP-1, induzida por alimentos mal digeridos nos segmentos distais do intestino em cirurgias bariátricas [1, 4, 8, 13, 26, 32, 33].

No presente estudo, no grupo CAF, constatou intolerância à glicose, resistência insulínica e hiperinsulinemia e a melhor resposta para homeostase glicêmica foi obtida pela DDJ. Por isso, concordamos com a especulação de que o estímulo crônico de dietas de alto valor calórico no segmento duodenojejunal, provocaria a produção de um sinal responsável pelo efeito diabetogênico, levando à resistência insulínica e, como consequência, a potencial evolução para o DM-2 [1, 4, 8, 12, 13, 26, 28, 32, 33].

Rubino *et al.* (2006), para confirmar que a hipótese do intestino proximal, ou seja, a exclusão duodenojejunal proximal é preponderante na homeostase glicêmica,

além de fazerem um modelo como o grupo DDJ, fizeram uma gastrojejunostomia em alça com segmento intestinal de comprimento semelhante ao DDJ. Quando o alimento foi excluído da passagem na região duodenojejunal houve melhora significativa da tolerância à glicose. No grupo DDJ, desse mesmo estudo, ao restabelecerem o trânsito intestinal pelo duodeno, houve piora da tolerância à glicose, supostamente pelo dano causado pela passagem dos alimentos neste seguimento intestinal [13]. O restabelecimento do trânsito pela DDJ neste trabalho pode ser questionado pelos poucos ratos que sobreviveram ao procedimento, apenas dois, mas o restabelecimento da intolerância à glicose ficou muito evidente. Portanto, a DDJ executada por nós, em semelhança a este estudo, tem como principal mecanismo da homeostase glicêmica as alterações anatômicas, funcionais e metabólicas produzidas por este procedimento de derivação gastrointestinal. Este modelo, em que foi utilizada a dieta de cafeteria mimetizando a realidade da dieta utilizada em humanos, reforça que os controles glicêmicos em inúmeros trabalhos clínicos com derivação gastrointestinal se devem a estes mecanismos de controle da homeostase glicêmica. Portanto, o desvio do eixo gastrointestinal é necessário e suficiente para melhora do metabolismo glicídico em ratos Wistar com obesidade induzida pela dieta de cafeteria, reforçando a hipótese do intestino proximal [1, 4, 8, 12, 13, 26, 28, 32, 33].

5.9.2 Hipótese do Intestino Distal

A hipótese do intestino distal prevalecer no controle da homeostase glicêmica, resultante da apresentação de alimentos mal digeridos, como ocorre na DGYR, DBP e também na DDJ, aumentando a produção de GLP-1 e PYY, entre outros hormônios gastrointestinais distais, é defendida por diversos autores [1, 4, 8, 11, 13, 26, 32, 33, 35]. Wang *et al.* (2008) apresentaram evidências, comparando a DDJ com a interposição ileal, de que obtiveram uma melhor resposta nesse último grupo de estudo decorrente do aumento significativo de GLP-1. Strader *et al.* (2005), utilizando a interposição ileal, encontraram melhora da sensibilidade insulínica consequente à perda de peso no pós-operatório em ratos, utilizando dieta hiperlipídica [66].

A hipótese da ação direta do alimento mal digerido no intestino distal como responsável pela maior produção de GLP-1 no grupo CAF DDJ e pela homeostase glicêmica, neste grupo, deve ser mais bem estudada. Esta hipótese necessita de uma explanação melhor pelas discrepâncias observadas em estudos clínicos e experimentais.

5.10 INCRETINAS E OUTROS MECANISMOS ENVOLVIDOS NA HOMEOSTASE GLICÊMICA

5.10.1 Incretinas

A utilização de ratos com elevação de GLP-1, pela deleção ou mutação na enzima responsável pela sua degradação, a dipeptidil peptidase IV, evoluindo com melhora na tolerância à glicose, tem reforçado o mecanismo de ação desse hormônio no controle glicêmico. Porém, na análise convencional do GLP-1 que não distingue, entre a forma intacta das formas metabolicamente inativas do GLP-1, demanda à estas avaliações a possibilidade de vários questionamentos [44]. Portanto, a análise da homeostase glicêmica como resultado final tem sua validade, porém, os mecanismos que fazem intervenção nesse metabolismo ainda estão por serem mais bem esclarecidos [91].

Do ponto de vista hormonal, o grupo submetido à DDJ melhorou a tolerância à glicose, diminuiu a resistência insulínica e melhorou a sensibilidade insulínica, que são sinais indiretos de ação das incretinas. O GLP-1, além destes efeitos, inibe o esvaziamento gástrico e, conseqüentemente, diminui a ingestão de alimentos. [1, 4, 8, 13, 26, 32, 33]. Portanto, devemos entender que além dos efeitos incretínicos, a homeostase glicêmica está sujeita a outros mecanismos ainda não esclarecidos.

5.10.2 Ácidos Biliares

O íleo não é somente um local importante para síntese e secreção de hormônios gastrointestinais, como demonstrado na interposição ileal e na DDJ. A reabsorção de sais biliares tem sido especulada como um dos fatores responsáveis pelo controle glicêmico. A exposição da mucosa gastrointestinal por estes ácidos pode provocar um estímulo no jejuno proximal da DDJ, realizada neste estudo, assim como no jejuno da interposição ileal e da DBP. Teoricamente, os resultados desses estímulos aumentam a capacidade absorptiva destes segmentos pela presença de ácidos biliares [28, 44]. Em avaliações clínicas, foi descrita a elevação da concentração de ácidos biliares no plasma após cirurgia de derivação gastrointestinal [28].

5.10.3 Inflamação

Ramos *et al.* (2003) demonstraram que marcadores inflamatórios com interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) na gordura e concentração da corticosterona estão relacionados com a obesidade. Portanto, a redução desses marcadores inflamatórios, em modelos experimentais com obesidade induzida pela dieta de cafeteria e submetidos à DGYR e à DDJ, realizada neste estudo, confirma que a obesidade é uma condição inflamatória, expressa no núcleo arqueado do hipotálamo e no tecido celular subcutâneo, podendo ser um dos mecanismos envolvidos na homeostase glicêmica [40].

5.11 O FUTURO DOS ESTUDOS EXPERIMENTAIS

A regulação neuroendócrina do consumo alimentar é complexa e envolve a interação do cérebro com os impulsos gerados nos neurônios do SNC e por hormônios produzidos na periferia. A regulação exercida pelo trato digestório é intrigante e corresponde um campo promissor, tanto no desenvolvimento de terapêuticas para obesidade e o DM-2 quanto para estudos experimentais e estudos clínicos [78]. A sociedade leiga e científica clama por estudos para definir os protocolos para procedimentos clínicos e experimentais e conseqüentemente estabelecer os melhores tratamentos cirúrgicos ou não cirúrgicos nesta área. O estímulo da utilização de modelos experimentais para a pesquisa é a possibilidade de estudos controlados e com distúrbios metabólicos semelhantes aos ocorridos em humanos. Portanto, o perfil de estudo utilizado nesta pesquisa está entre os mais validados para entender os mecanismos fisiopatológicos da obesidade e do DM-2. Como a obesidade é uma doença crônica, neuroquímica e recidivante, somente com esses estudos teremos a definição dos melhores tratamentos de longo prazo, aceitáveis e com maiores benefícios para o paciente portador dessa doença tão incidente.

Alguns estudos no futuro deverão ser executados para complementar o entendimento do efeito da DDJ em ratos Wistar com obesidade induzida pela dieta de cafeteria, entre eles: o estudo da anatomia de todo o trato gastrointestinal; a avaliação da inervação intrínseca e extrínseca gastrointestinal; a alteração fisiológica e anatômica das células do trato gastrointestinal; as modificações na produção de enzimas presentes nas criptas dos enterócitos; a flora gastrointestinal; e secreções gastrointestinais.

5.12 APLICABILIDADE DESTE ESTUDO

O resultado deste estudo tem implicações clínicas imediatas. As evidências da pesquisa, utilizando ratos intolerantes à glicose, com obesidade induzida pela dieta de cafeteria e o efeito direto da exclusão duodenal em reverter estas

alterações metabólicas, determinam que o DM-2 pode ser curado ou melhorado pela exclusão do intestino proximal.

5.13 LIMITAÇÕES DO ESTUDO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO CLÍNICO

É preocupante comparar os achados experimentais de uma espécie para outra, ao extrapolar achados de estudos experimentais de obesidade induzida com dieta de cafeteria em animais com a obesidade humana. Entretanto, virtualmente, em todas as espécies estudadas, há uma associação positiva entre consumo de dieta hipercalórica e obesidade, principalmente entre os mamíferos [16].

Cohen *et al.* (2007) descrevem, pela primeira vez, as principais vantagens da derivação duodenojejunal em estudos clínicos, e relatam que, além do controle da homeostase glicêmica, ressalta a facilidade de acesso ao estômago devido à preservação gástrica. Este benefício seria principalmente para regiões endêmicas para o câncer gástrico e para evitar complicações típicas como a anemia e a deficiência de vitamina B₁₂ [7].

Uma meta-análise, envolvendo 136 estudos com um total de 22.094 pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, mostrou que os pacientes submetidos à DGYR apresentaram cura do DM-2 em 84% dos pacientes e apresentou persistência de excesso de peso não eliminado de 40 % a 50% [39]. Portanto, a terminologia de “Cirurgia do DM-2 ou Metabólica” está absolutamente correta para esses procedimentos, apesar da resistência de alguns profissionais em aceitar esta terminologia. Rubino *et al.* (2008) afirmam que a evidência clínica observada nas cirurgias que mantêm por longos períodos a remissão do DM-2 (DGYR e DBP) sustentam a possibilidade do DM-2 ser uma doença do intestino [8].

Há necessidade premente da evolução dos critérios de cirurgia bariátrica, que foram apresentados, pela primeira vez, em 1991, pelo consenso desenvolvido pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH), que teve, para a época, o benefício de estipular critérios para evitar procedimentos em pacientes de uma maneira indiscriminada. Após 18 anos, com novos estudos clínicos e experimentais na área, outros critérios devem ser definidos pelas sociedades organizadas. Estudos como este fazem parte da evolução científica para responder a diversas questões

para o estabelecimento de critérios sólidos para os próximos anos, na área da cirurgia do DM-2 e da cirurgia bariátrica [26, 91-93].

O protocolo publicado na revista *Diabetes Care*, pela Associação de Diabetes Americana (ADA), em janeiro de 2009, incluiu pela primeira vez, a cirurgia bariátrica, como uma opção para o tratamento do DM-2. A indicação descrita é para pacientes obesos com IMC maior ou igual a 35 kg/m^2 , que não responderam com mudança no estilo de vida e/ou tratamento farmacológico e considera as demais indicações da cirurgia para o DM-2 não respaldadas pela literatura vigente. A discussão maior desse posicionamento está em ter sido utilizado, por esta associação, apenas o parâmetro do IMC como indicador de cirurgia [22]. Contrariamente ao que se discutiu amplamente no XI Congresso da Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica e I Congresso Panamericano de Cirurgia do DM-2, que apontou a necessidade de uma avaliação metabólica pormenorizada e individualizada integrar os critérios para indicação cirúrgica do DM-2 [94].

Concordamos, assim como ocorreu em 1991, com o estabelecimento do consenso desenvolvido pelo Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (NIH): para indicação da cirurgia bariátrica, necessita-se de estudos controlados e randomizados, multicêntricos, com tratamento clínico e cirúrgico, para melhor indicar esses procedimentos, principalmente no paciente portador do DM-2 não obeso [26, 92, 93]. As sociedades médicas e não médicas envolvidas devem discutir em conjunto estas condutas que são empolgantes para uns e causam espanto para outros, provavelmente pela desinformação de ambos os lados.

Atualmente, menos de 2% dos Americanos elegíveis para cirurgia bariátrica pelos critérios vigentes têm acesso a esta modalidade de terapia. Em um futuro próximo, com as novas pesquisas e o desenvolvimento de uma terapia medicamentosa efetiva, 98% poderiam ser beneficiados por esse tratamento, ou evitar a evolução para o DM-2 e todas as suas comorbidades, ou, até mesmo, por uma cirurgia [27].

Determinar o melhor procedimento cirúrgico para a cura do DM-2 tem sido uma importante meta. O procedimento “padrão ouro” tem que ter índices aceitáveis de morbidade e mortalidade, resultar em um significativo e durável controle da glicemia, levar a uma melhora ou resolução das comorbidades relacionadas ao DM-2 e à qualidade de vida. Dieta e mudanças no estilo de vida não têm tido sucesso no

controle do DM-2. A reversão dessa doença tem sido obtida somente após cirurgias de derivação gastrointestinal [9].

5.14 O FUTURO DA CIRURGIA METABÓLICA

Usar a cirurgia para tratar o DM-2 é um conceito revolucionário e representa uma ruptura de paradigma com as terapias vigentes, por isso tem causado grande discussão entre os profissionais envolvidos e muitos relutam em aceitar esses conceitos [8]. Os resultados são consistentes, com evidência de melhora das desordens metabólicas com os procedimentos cirúrgicos apresentados, dando às sociedades organizadas nacionais e internacionais de cirurgia bariátrica e metabólica maior atenção nos aspectos metabólicos destas intervenções [1]. Nos próximos anos, como uma prioridade médica, devem-se publicar consensos para o tratamento cirúrgico do DM-2. O índice de massa corporal como principal parâmetro para indicação de cirurgia bariátrica, deverá ser reavaliado e outros dados para estes procedimentos deverão ser estabelecidos, principalmente para os pacientes portadores do DM-2 [8, 91].

A cirurgia como tratamento antidiabético, inevitavelmente, terá oposição de clínicos e cirurgiões. De fato, o risco de mortalidade e morbidade pode ser visto com desproporcionalidade em uma doença que sempre foi tratada clinicamente. Entretanto, o DM-2 não é uma doença benigna, o seu portador possui significativa redução da expectativa e da qualidade de vida. Na prática clínica corrente, muitas doenças são tratadas cirurgicamente, embora com potencial benigno na sua evolução maior que o DM-2. Tal como o DM-2, os portadores da doença do refluxo gastroesofágico podem se beneficiar de tratamento clínico com medicamentos que possuem uma efetividade maior do que as drogas antidiabéticas e, pela recorrência dos sintomas, esses pacientes podem se beneficiar também da cirurgia sem causar tantas controvérsias como ocorre no DM-2 [26].

6 CONCLUSÕES

Nos ratos Wistar machos, alimentados durante 38 a 40 semanas com dieta de cafeteria, foram observados os seguintes efeitos, da derivação duodenojejunal, em relação aos animais do grupo controle:

- a) Não promove alteração do peso corporal.
- b) Não altera o comprimento nasoanal, circunferência abdominal e o índice de Lee.
- c) No teste intraperitoneal de tolerância à glicose reduz a glicemia aos 90, 120 e 180 minutos e não modifica a área abaixo da curva; diminui a resistência periférica à insulina no teste de tolerância à insulina, na dosagem de insulina sérica e na análise pelo HOMA-IR e não altera a glicemia; aumenta a secreção de insulina *in vitro* na concentração de 5,6 mmol/l de glicose e não modifica a secreção de insulina *in vitro* nas concentrações de 11,1 e 22,2 mmol/l de glicose.
- d) Não altera o perfil lipídico, exceto pelo aumento do HDL-colesterol.
- e) Diminui o conteúdo total de gordura hepática e não promove diferença na porcentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal.
- f) Não promove alteração na gordura retroperitoneal e na gordura perigonadal

Nos ratos Wistar machos, alimentados durante 38 a 40 semanas com dieta de cafeteria, foram observados os seguintes efeitos da derivação duodenojejunal, em relação aos animais submetidos à pseudocirurgia da derivação duodenojejunal:

- a) Não promove alteração do peso corporal.
- b) Não altera o comprimento nasoanal, circunferência abdominal e o índice de Lee.
- c) Diminui a resistência periférica à insulina na dosagem de insulina sérica e na análise pelo HOMA-IR e não modifica a secreção de insulina *in vitro*.
- d) Não altera o perfil lipídico.
- e) Não altera o conteúdo de gordura hepática total e não promove diferença na porcentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal.
- f) Não promove alteração na gordura retroperitoneal e gordura perigonadal.

REFERÊNCIAS

1. GREVE, J. W.; RUBINO F. Bariatric surgery for metabolic disorders. **Br J Surg**, 95(11): p. 1313-4. 2008.
2. STENSTROM, B. *et al.* Mechanism of gastric bypass-induced body weight loss: one-year follow-up after micro-gastric bypass in rats. **J Gastrointest Surg**, 10(10): p. 1384-91. 2006.
3. RUBINO, F., *et al.* The role of the small bowel in the regulation of circulating ghrelin levels and food intake in the obese Zucker rat. **Endocrinology**, 146(4): p. 1745-51. 2005.
4. RUBINO, F.; MARESCAUX J. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. **Ann Surg**, 239(1): p. 1-11. 2004.
5. DEL CASTILLO DEJARDIN, D. *et al.* The evolution of experimental surgery in the field of morbid obesity. **Obes Surg**, 14(9): p. 1263-72. 2004.
6. PACHECO, D. *et al.* The effects of duodenal-jejunal exclusion on hormonal regulation of glucose metabolism in Goto-Kakizaki rats. **Am J Surg**, 194(2): p. 221-4. 2007.
7. COHEN, R.V. *et al.* Duodenal-jejunal bypass for the treatment of type 2 diabetes in patients with body mass index of 22-34 kg/m²: a report of 2 cases. **Surg Obes Relat Dis**, 3(2): p. 195-7. 2007.
8. RUBINO, F. Is type 2 diabetes an operable intestinal disease? A provocative yet reasonable hypothesis. **Diabetes Care**, 31 Suppl 2: p. S290-6. 2008.
9. WANG, T.T. *et al.* Ileal transposition controls diabetes as well as modified duodenal jejunal bypass with better lipid lowering in a nonobese rat model of type II diabetes by increasing GLP-1. **Ann Surg**, 247(6): p. 968-75. 2008.

10. RAMOS, A.C. *et al.* Laparoscopic duodenal-jejunal exclusion in the treatment of type 2 diabetes mellitus in patients with BMI<30 kg/m² (LBMI). **Obes Surg**, 19(3): p. 307-12. 2009.
11. MARTINS, M.V.D.de C. *et al.* Glucose tolerance in the proximal versus the distal small bowel in wistar rats. **Obes Surg**, (19): p. 202-206. 2009.
12. MARTINS, M.V.D.de C.; SOUZA A.A.P.de. Mecanismos Cirúrgicos de Controle do Diabetes Mellitus Tipo 2 após Cirurgia Bariátrica. **Rev. Col. Bras. Cir.**, 34(5): p. 343-346. 2007.
13. RUBINO, F. *et al.* The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. **Ann Surg**, 244(5): p. 741-9. 2006.
14. CARROLL, L.; VOISEY, J.; VAN DAAL, A. Mouse models of obesity. **Clin Dermatol**, 22(4): p. 345-9. 2004.
15. VON DIEMEN, V.; TRINDADE, E.N.; TRINDADE, M.R. Experimental model to induce obesity in rats. **Acta Cir Bras**, 21(6): p. 425-9. 2006.
16. WEST, D.B.; YORK B. Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. **Am J Clin Nutr**, 67(3 Suppl): p. 505S-512S. 1998.
17. PRADA, P.O. *et al.* Western diet modulates insulin signaling, c-Jun N-terminal kinase activity, and insulin receptor substrate-1ser307 phosphorylation in a tissue-specific fashion. **Endocrinology**, 146(3): p. 1576-87. 2005.
18. MEGUID, M.M. *et al.* A surgical rat model of human Roux-en-Y gastric bypass. **J Gastrointest Surg**, 8(5): p. 621-30. 2004.
19. MORAES-FILHO, J.P.P.de. **Tratado das enfermidades gastrointestinais e pancreáticas**. 1. ed São Paulo: Rocca, 2008.
20. BANDEIRA, F. **Endocrinologia e Diabetes**. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.
21. UNGER, R.H.; FOSTER, D.W. Diabetes mellitus. In: WILSON, J. D.; FOSTER, D. W.; KRONENBERG, H. M.; LARSEN, P. R. **Williams textbook of endocrinology**. Philadelphia: W.S. Co., Editor. 1998.

22. ASSOCIATION, A.D. Standards of Medical Care in Diabetes—2009. **Diabetes Care**, 32(s1): p. s13 - s61. 2009.
23. NARAYAN, K.M. *et al.* Diabetes--a common, growing, serious, costly, and potentially preventable public health problem. **Diabetes Res Clin Pract**, 50 Suppl 2: p. S77-84. 2000.
24. BRAY, G.A. Obesity: historical development of scientific and cultural ideas. **Int J Obes**, 14(11): p. 909-26. 1990.
25. CESARETTI, M.L.; KOHLMANN JUNIOR, O. Experimental models of insulin resistance and obesity: lessons learned. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, 50(2), p. 190-7. 2006.
26. RUBINO, F. Bariatric surgery: effects on glucose homeostasis. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 9(4): p. 497-507. 2006.
27. PORIES, W.J.; DOHM G.L. Full and durable remission of type 2 diabetes? Through surgery? **Surg Obes Relat Dis**, 5(2): p. 285-8. 2009.
28. STRADER, A.D. *et al.* Ileal interposition improves glucose tolerance in low dose streptozotocin-treated diabetic and euglycemic rats. **Obes Surg**, 19(1): p. 96-104. 2009.
29. PORIES, W.J. Bariatric surgery: risks and rewards. **J Clin Endocrinol Metab**, 93(11 Suppl 1): p. S89-96. 2008.
30. BLOOM, S. Hormonal regulation of appetite. **Obes Rev**, 8 Suppl 1: p. 63-5. 2007.
31. FREZZA, E.E. Are we closer to finding the treatment for type 2 diabetes mellitus in morbid obesity? Are the incretins the key to success? **Obes Surg**, 14(7): p. 999-1005. 2004.
32. RUBINO, F. *et al.* The early effect of the Roux-en-Y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation and glucose metabolism. **Ann Surg**, 240(2): p. 236-42. 2004.
33. RUBINO, F.; GAGNER M. Potential of surgery for curing type 2 diabetes mellitus. **Ann Surg**, 236(5): p. 554-9. 2002

34. MASON, E.E. Ileal (correction of ilial) transposition and enteroglucagon/GLP-1 in obesity (and diabetic?) surgery. **Obes Surg**, 9(3): p. 223-8. 1999.
35. PATRITI, A., *et al.* How the hindgut can cure type 2 diabetes. Ileal transposition improves glucose metabolism and beta-cell function in Goto-kakizaki rats through an enhanced Proglucagon gene expression and L-cell number. **Surgery**, 142(1): p. 74-85. 2007.
36. BRADLEY, R.L.; CLEVELAND K.A.; CHEATHAM B. The adipocyte as a secretory organ: mechanisms of vesicle transport and secretory pathways. **Recent Prog Horm Res**, 56: p. 329-58. 2001.
37. COLLINS, B.J. *et al.* Gastric bypass: why Roux-en-Y? A review of experimental data. **Arch Surg**, 142(10): p. 1000-3; discussion 1004. 2007.
38. RENOLD, A.E.; BURR I.M.; STAUFFACHER W. Experimental and spontaneous diabetes in animals: what is their relevance to human diabetes mellitus? **Proc R Soc Med**, 64(6): p. 613-7. 1971.
39. BUCHWALD, H. *et al.* Bariatric surgery: a systematic review and meta-analysis. **Jama**, 292(14): p. 1724-37. 2004.
40. RAMOS, E.J. *et al.* Is obesity an inflammatory disease? **Surgery**, 134(2): p. 119-35. 2003.
41. MACDONALD, K.G. Jr. *et al.* The gastric bypass operation reduces the progression and mortality of non-insulin-dependent diabetes mellitus. **J Gastrointest Surg**, 1(3): p. 213-20; discussion 220. 1997.
42. GELONEZE, B. *et al.* Surgery for nonobese type 2 diabetic patients: an interventional study with duodenal-jejunal exclusion. **Obes Surg**, 19(8): p. 1077-1083. 2009.
43. RODRIGUEZ-GRUNERT, L., *et al.* First human experience with endoscopically delivered and retrieved duodenal-jejunal bypass sleeve. **Surg Obes Relat Dis**, 4(1): p. 55-9. 2008.
44. PATRITI, A. *et al.* How the hindgut can cure type 2 diabetes. Ileal transposition improves glucose metabolism and beta-cell function in Goto-kakizaki rats through an enhanced Proglucagon gene expression and L-cell number. **Surgery**, 142(1): p. 74-85, 2007.

45. SANTORO, S. *et al.* Preliminary results from digestive adaptation: a new surgical proposal for treating obesity, based on physiology and evolution. **Sao Paulo Med J**, 124(4): p. 192-7. 2006.
46. ESTADELLA, D. *et al.* Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**, 20(2): p. 218-24. 2004
47. NANDI, A. *et al.* Mouse models of insulin resistance. **Physiol Rev**, 84(2): p. 623-47. 2004.
48. SPEAKMAN, J. *et al.* Animal models of obesity. **Obes Rev**, 8 Suppl 1: p. 55-61. 2007.
49. MISTRY, S.B.; OMANA, J.J.; KINI, S. Rat models for bariatric surgery and surgery for type 2 diabetes mellitus. **Obes Surg**, 19(5): p. 655-60. 2009.
50. BORG, C.M. *et al.* Biliopancreatic diversion in rats is associated with intestinal hypertrophy and with increased GLP-1, GLP-2 and PYY levels. **Obes Surg**, 17(9): p. 1193-8. 2007.
51. APRAHAMIAN, C.J. *et al.* A rat model of childhood diet-induced obesity: Roux-en-Y gastric bypass induced changes in metabolic parameters and gastric peptide ghrelin. **Pediatr Surg Int**, 23(7): p. 653-7. 2007.
52. SUZUKI, S. *et al.* Changes in GI hormones and their effect on gastric emptying and transit times after Roux-en-Y gastric bypass in rat model. **Surgery**, 138(2): p. 283-90. 2005.
53. MENDIETA-ZERON, H. *et al.* Larrad Biliopancreatic Diversion in Sprague-Dawley Rats. Analysis of Weight Loss Related to Food Intake. **Obes Surg**, 2008.
54. FURNES, M.W. *et al.* Gastric bypass surgery causes body weight loss without reducing food intake in rats. **Obes Surg**, 18(4): p. 415-22. 2008.
55. PEREFERRER, F.S. *et al.* Influence of sleeve gastrectomy on several experimental models of obesity: metabolic and hormonal implications. **Obes Surg**, 18(1): p. 97-108. 2008.

56. BONA CASTELAN, J. DE, *et al.* Sleeve gastrectomy model in Wistar rats. **Obes Surg**, 17(7): p. 957-61. 2007.
57. PATRIKAKOS, P. *et al.* A Surgical Rat Model of Sleeve Gastrectomy with Staple Technique: Long-Term Weight Loss Results. **Obes Surg**, 2009.
58. ROKICKI, W.; Rokicki M.; Rokicki, W. Jr. The original experimental model in rats to study gastric banding surgery. **Obes Surg**, 18(6): p. 686-9. 2008.
59. ENDO, Y. *et al.* An obese rat model of bariatric surgery with gastric banding. **Obes Surg**, 17(6): p. 815-9. 2007.
60. BOZBORA, A. *et al.* The effects of gastric bands of different synthetic materials on the gastric and esophageal mucosa: an experimental study. **Obes Surg**, 14(2): p. 246-52. 2004.
61. MONTEIRO, M.P. *et al.* A rat model of restrictive bariatric surgery with gastric banding. **Obes Surg**, 16(1): p. 48-51. 2006.
62. FUSCO, P.E. *et al.* Comparison of anterior gastric wall and greater gastric curvature invaginations for weight loss in rats. **Obes Surg**, 17(10): p. 1340-5. 2007.
63. COSKUN, H. *et al.* Effect on gastric emptying and weight reduction of botulinum toxin-A injection into the gastric antral layer: an experimental study in the obese rat model. **Obes Surg**, 15(8): p. 1137-43. 2005.
64. LIU, S. *et al.* Central expressions of ghrelin and cholecystokinin in rats with gastric electrical stimulation. **Obes Surg**, 18(1): p. 109-14. 2008.
65. FERRAZ, A.A. *et al.* An experimental study of the electrical activity of the bypassed stomach in the Roux-en-Y gastric bypass. **Arq Gastroenterol**, 44(2): p. 162-7. 2007.
66. STRADER, A.D. *et al.* Weight loss through ileal transposition is accompanied by increased ileal hormone secretion and synthesis in rats. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, 288(2): p. E447-53. 2005.

67. PATRITI, A. *et al.* Early improvement of glucose tolerance after ileal transposition in a non-obese type 2 diabetes rat model. **Obes Surg**, 15(9): p. 1258-64. 2005.
68. PEREFERRER, F.S. *et al.* The effects of ileal transposition, gastrojejunal bypass and vertical gastropasty on the regulation of ingestion in an experimental obesity model associated with diabetes mellitus type 2. **Cir Esp**, 8R5(4): p. 222-8. 2009.
69. MARCHESINI, J.C.D. End-to-side duodeno-jejunostomy with half-and-half biliopancreatic limb for the treatment of type 2 diabetes: a proposal for a simpler technique. **Obes Surg**, 17(1): p. 138-9. 2007.
70. COELHO, J.C.U. **Aparelho digestivo: clínica e cirurgia**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2006.
71. BERNARDIS, L.L.; PATTERSON, B.D. Correlation between "Lee Index" and carcass fat content in weaning and adult female rats with hypothalamic lesions. **J. Endocr**, 40: p. 527-508. 1968.
72. DEMIGNE, C. *et al.* Mice chronically fed a westernized experimental diet as a model of obesity, metabolic syndrome and osteoporosis. **Eur J Nutr**, 45(5): p. 298-306. 2006.
73. DYER, R.G. Traditional treatment of obesity: does it work? **Baillieres Clin Endocrinol Metab**, 8(3): p. 661-88. 1994.
74. MONTEIRO, C.A. *et al.* *Da desnutrição para a obesidade: a transição nutricional no Brasil*, in C.A. MONTEIRO. **Velhos e novos males da saúde no Brasil: a evolução do país e suas doenças**. São Paulo: Hucitec Editor, 1995. p. 247-255.
75. LE BLANC-LOUVRY, I. *et al.* Motility in the Roux-Y limb after distal gastrectomy: relation to the length of the limb and the afferent duodenojejunal segment--an experimental study. **Neurogastroenterol Motil**, 11(5): p. 365-74. 1999.
76. ROCCA, A.S.; BRUBAKER, P.L. Role of the vagus nerve in mediating proximal nutrient-induced glucagon-like peptide-1 secretion. **Endocrinology**, 140(4): p. 1687-94. 1999.

77. KRETSCHMER, B.D. *et al.* Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. **Life Science**, 76(14): p. 1553-73. 2005.
78. GELONEZE, B., GELONEZE, S.R.; PAREJA, J.C. Obesidade, In: MORAES-FILHO J.P.P.DE. **Tratado das enfermidades gastrointestinais e pancreáticas**, São Paulo: Roca Editor. p. 1301-12. 2008.
79. DE SCHEPPER, J. A. *et al.* Cafeteria diet-induced obesity is associated with a low spontaneous growth hormone secretion and normal plasma insulin-like growth factor-I concentrations. **Growth Horm IGF Res**, 8(5): p. 397-401. 1998.
80. IZUMIZAKI, M., *et al.* *Effect of body position on ventilatory responses in anaesthetised mice.* **Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol**, 141(2): p. 133-9. 2005.
81. FUENTES, J.M., *et al.* *General anesthesia delays the inflammatory response and increases survival for mice with endotoxic shock.* **Clin Vaccine Immunol**, 13(2): p. 281-8 .2006.
82. PORIES, W.J. *et al.* Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. **Ann Surg**, 222(3): p. 339-50; discussion 350-2. 1995.
83. SALERNO, A.G. *et al.* Overexpression of apolipoprotein CIII increases and CETP reverses diet-induced obesity in transgenic mice. **Int J Obes (Lond)**, 31(10): p. 1586-95. 2007.
84. GELONEZE, B.; TAMBASCIA M.A. Avaliação Laboratorial e Diagnóstico da Resistência Insulínica. **Arq Bras Endocrinol Metabol** 50(2): p. 208-215.
85. KATSUKI, A. *et al.* Homeostasis model assessment is a reliable indicator of insulin resistance during follow-up of patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, 24(2): p. 362-5. 2001.
86. BOSCHERO, A.C. Acoplamento excitação-secreção nas células B pancreáticas. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, 40: p. 149-55. 1996.
87. HICKEY, M.S. *et al.* A new paradigm for type 2 diabetes mellitus: could it be a disease of the foregut? **Ann Surg**, 227(5): p. 637-43; discussion 643-4. 1998.

88. BLUMENKANTZ, M. **Obesity: the world's metabolic disorder**. Beverly Hills. 1997.
89. WANG, J.S. *et al*. Effects of patient volume on quality of outpatient diabetes care. **Diabetes Res Clin Pract**, 84(2): p. e27-9. 2009.
90. XU, Y. *et al*. Gastric bypass model in the obese rat to study metabolic mechanisms of weight loss. **J Surg Res**, 107(1): p. 56-63. 2002.
91. BOSE, M. *et al*. Do Incretins play a role in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: What are the evidence? **Obes Surg**, 19(2): p. 217-29. 2009.
92. BETHESDA, MD. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Proceedings of a National Institutes of Health Consensus Development Conference March 25-27, 1991. **Am J Clin Nutr**, 55(2 Suppl): p. 487S-619S. 1992.
93. NIH CONFERENCE. Gastrointestinal surgery for severe obesity. Consensus Development Conference Panel. **Ann Intern Med**,. 115(12): p. 956-61. 1991
94. CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA BARIÁTRICA E METABÓLICA, 11., 2009, São Paulo; CONGRESSO PANAMERICANO DE CIRURGIA DO DIABETES TIPO 2, 1., 2009. São Paulo