Universidade Federal do Rio de Janeiro

Centro de Ciências da Saúde

Instituto de Nutrição Josué de Castro

Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Influência do SNP rs9939609 do gene *Fat Mass and Obesity-Associated* (*FTO*) na fome, saciedade e leptinemia de mulheres obesas

Helena Chrispim Guaraná

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Lopes Rosado

Rio de Janeiro - RJ

Abril – 2016

Helena Chrispim Guaraná

Influência do SNP rs9939609 do gene *Fat Mass and Obesity-Associated* (*FTO*) na fome, saciedade e leptinemia de mulheres obesas

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Nutrição Humana pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição do Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC/UFRJ) – curso *stricto sensu*, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título.

Rio de Janeiro, 28 de abril de 2016.

_____

Dra. Eliane Lopes Rosado (orientadora)

Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos – Universidade Federal de Viçosa (UFV)

_____

Dr[a]. Giselda Kalil Cabello

Doutor em Biologia Celular e Molecular – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

_____

Dr. Edson Braga Lameu

Doutor em Nutrologia – Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

_____

Dr[a]. Avany Fernandes Pereira (revisora)

Doutora em Ciência dos Alimentos – Universidade de São Paulo (USP)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela graça de concluir este trabalho, mesmo após tantas tribulações no decorrer destes dois anos.

Agradeço ao meu namorado, Leandro, pela força, pelo suporte emocional, pelas conversas e conselhos, por estar ao meu lado enquanto estive escrevendo, por se interessar por tudo o que acontecia ao longo da pesquisa, por despertar em mim o raciocínio e novas ideias.

Agradeço à minha orientadora, Eliane Rosado, pelas aulas, pelas orientações, pelas explicações, pelas tantas correções e por me ajudar a crescer como pessoa e como profissional.

Agradeço ao meu pai, aos meus irmãos, Laura, Pedro e Clara, e à Mônica por todo apoio que vocês puderam me dar nesses dois anos. Obrigada pelos estímulos, pelos conselhos e por acreditarem em mim.

Agradeço à minha mãe que, de onde estiver, intercede por mim a Deus. Tenho certeza de que boa parte da minha força vem de você.

Agradeço aos meus sobrinhos lindos, Luiza, Gabriel e Julia, por encherem os meus dias de graça e alegria, sempre que eu pude estar com vocês.

Agradeço à minha querida amiga Kelly, por sua amizade, pela companhia maravilhosa no trabalho, pelos banhos de chuva não intencionais, pelos lanchinhos e pelo carinho de me ouvir quando eu precisava desabafar.

Agradeço à minha companheira de pesquisa, doutoranda Fernanda, pelo apoio, pela dedicação, pela paciência, pelos conselhos, pelos contatos e por dividir essa paixão pela profissão.

Agradeço à nossa companheira de pesquisa, a IC Aline, pelo interesse pela pesquisa, pela dedicação e pela atenção a cada detalhe que a pesquisa exigia.

Agradeço à Carol, que nos recebeu tão bem na Fiocruz, sendo paciente e detalhista em cada explicação e cada etapa de extração de DNA e de PCR.

Agradeço às meninas do LACFAR, Luzinete, Fernanda, Bia e Patrícia, pela boa vontade, pelas explicações, por nos receberem de braços abertos toda 5ª feira de manhã.

Agradeço ao pessoal dos laboratórios de Bioquímica e DAFEE, onde nossas amostras ficaram guardadas com tanto cuidado.

Agradeço à Rosi, fundadora da GRACO, que abriu carinhosamente as portas de sua "casa" para a nossa pesquisa. Agradeço também ao Marcos, enfermeiro da GRACO, e à Shana, filha da Rosi, pela paciência, dedicação, atenção e ajuda que nos foram doadas em tantos momentos que precisamos contactar as voluntárias e acessar seus prontuários.

Agradeço em especial a cada voluntária que se disponibilizou em participar da pesquisa. Obrigada pela dedicação e pelo interesse em contribuir com o desvendar da obesidade.

RESUMO

Influência do SNP rs9939609 do gene *Fat Mass and Obesity-Associated* (*FTO*) na fome, saciedade e leptinemia de mulheres obesas

INTRODUÇÃO: A obesidade representa um agravo à saúde de ordem mundial, com crescimento exponencial observado nas últimas décadas. Alguns estudos sugerem uma possível relação entre polimorfismos do gene *FTO* e leptina sérica, influenciando na sensação de plenitude gástrica e regulação da ingestão alimentar. O SNP rs9939609 do gene *FTO* tem sido relacionado com a obesidade, podendo afetar a homeostase energética. **OBJETIVO:** Avaliar a influência do polimorfismo do *single nucleotide polymorphism* (SNP) rs9939609 do gene *FTO* (*Fat Mass and Obesity Associated*) nas sensações de fome e saciedade e na leptinemia pré e pós prandial de mulheres com obesidade grau III. **CASUÍSTICA E MÉTODOS:** Trata-se de um estudo do tipo analítico transversal, que incluiu trinta e oito mulheres com obesidade grau III, adultas, sem outras doenças crônicas associadas, as quais foram distribuídas em 3 grupos, de acordo com o genótipo do *FTO*. No período basal, foram avaliados indicadores antropométricos, laboratoriais (glicose, insulina, perfil lipídico e leptina) e dietéticos, além da coleta de amostras de sangue para genotipagem do gene *FTO*. Em seguida, as mulheres receberam refeição padrão normolipídica, normoglicídica e normoprotéica para avaliação de leptina pós prandial. As análises dos dados foram realizadas no software SPSS versão 21.0, considerando $p \leq 0,05$. **RESULTADOS:** Foram avaliadas 38 mulheres com idade de 35,5 ± 7,4 anos e índice de massa corporal de 45,4 ± 7,03 kg/m^2. A frequência dos genótipos AA, AT e TT foi 23,7% (n=9), 42,1% (n=16) e 34,2% (n=13), respectivamente. Não foram observadas diferenças entre os genótipos para glicemia de jejum, insulina de jejum, colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c, triglicerídeos e ingestão calórica e de macronutrientes. As mulheres com o genótipo TT apresentaram maior sensação de fome e menor desejo de comer após o consumo da refeição padrão, comparadas aos genótipos AA e AT. A leptinemia não diferiu entre grupos nos tempos 0 e 180, porém mulheres com o genótipo TT apresentaram redução de leptina sérica no período pós prandial. **CONCLUSÃO:** O polimorfismo no SNP rs9939609 do gene *FTO* resultou em menor resposta pós-prandial a fome e desejo de comer, com possível relação com a manutenção da leptinemia pós prandial. Os indivíduos homozigotos selvagens apresentaram aumento da fome e do desejo de comer quando comparados aos indivíduos com polimorfismo, podendo estar relacionado com a redução da leptinemia pós-prandial. A saciedade não diferiu entre os genótipos.

PALAVRAS CHAVE: obesidade grau III, polimorfismo, *FTO*, rs9939609, saciedade, fome, leptina.

ABSTRACT

Influence of the SNP rs9939609 in the Fat Mass and Obesity-Associated (FTO) gene on hunger, satiety and leptinemia of obese women

INTRODUCTION: Obesity represents a serious health hazard of world order, with exponential growth observed in recent decades. Some studies suggest a possible relationship between polymorphisms of the *FTO* gene and serum leptin, influencing the feeling of fullness and regulation of food intake. The SNP rs9939609 of *FTO* gene has been linked to obesity, which can affect energy homeostasis. **OBJECTIVE:** Evaluate the influence of *FTO*'s (Fat Mass and Obesity Associated) gene single nucleotide polymorphism polymorphism (SNP) rs9939609 in the sensations of hunger and satiety and pre and post prandial serum leptin in women with morbid obesity. **METHODS:** This is a cross-sectional analytical study, which included thirty-eight adult women with morbid obesity without other chronic diseases, which were divided into 3 groups according to the *FTO* genotype. At basal period anthropometric, laboratory (glucose, insulin, lipid profile and leptin) and diet parameters were evaluated, and also blood samples were collected for genotyping of the *FTO* gene. Then the volunteers received a standard meal balanced in lipids, carbohydrates and proteins to assess postprandial leptin. Data analyzes were performed using SPSS software version 21.0, considering $p \leq 0.05$. **RESULTS:** 38 women aged 35.5 ± 7.4 years old and body mass index of 45.4 ± 7.03 kg / m^2 were evaluated. The frequency of genotypes AA, AT and TT was 23.7 % (n = 9), 42.1 % (n = 16) and 34.2 % (n = 13), respectively. No differences were observed among genotypes for fasting glucose, fasting insulin, total cholesterol, HDL-C, LDL-C, VLDL -C, triglycerides and caloric intake and macronutrient. Women with the TT genotype had higher feelings of hunger and less desire to eat, compared to AA and AT genotypes, after consumed the standard meal. The leptin concentration did not differ between genotypes at times 0 and 180, but women with the TT genotype had decreased serum leptin in the postprandial period. **CONCLUSION:** The polymorphism rs9939609 SNP of the FTO gene resulted in lower postprandial response to hunger and desire to eat, with possible relation with the maintenance of post prandial leptin. Individuals wild homozygotes had increased hunger and desire to eat when compared to individuals with polymorphism, which may be related to the reduction of postprandial leptin. Satiety did not differ between genotypes.

KEY WORDS: grade III obesity, polymorphism, FTO gene, rs9939609, satiety, hunger, leptin.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CAAE – Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

DM2 – diabetes *mellitus* tipo 2

DNA – ácido desoxirribonucleico

EAV – escala analógica visual

FTO – Fat Mass and Obesity-Associated

GRACO – Grupo de Resgate à Autoestima e Cidadania do Obeso

HDL – lipoproteína de alta densidade (*high density lipoprotein*)

HUCFF – Hospital Universitário Clementino Fraga Filho

IMC – índice de massa corporal

INJC – Instituto de Nutrição Josué de Castro

LACFAR – Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia

LDL – lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein*)

LEAC – Laboratório Especializado em Análises Científicas

PC – perímetro de cintura

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

POF – Pesquisa de Orçamentos Familiares

RI – resistência à insulina

SNP – *Single Nucleotide Polymorphism*

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TCLE – termo de consentimento livre e esclarecido

TG – triglicerídeos

TMR – taxa metabólica em repouso

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Vigitel – Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade (*very low density lipoprotein*)

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS iii
RESUMO v
ABSTRACT vi
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS vii
SUMÁRIO viii
ÍNDICE DE FIGURAS x
ÍNDICE DE TABELAS xi
1. INTRODUÇÃO 1
2. REFERENCIAL TEÓRICO 3
2.1. Obesidade 3
2.2. Leptina, obesidade e regulação da fome e da saciedade 6
3. JUSTIFICATIVA 13
4. OBJETIVOS 14
4.1. OBJETIVO GERAL 14
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 14
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS 15
5.1. Aspectos éticos 15
5.2. Delineamento do estudo 15
5.3. Local e captação de voluntárias 15
5.4. Critérios de elegibilidade 16
5.5. Fluxograma do estudo 16
5.6. Refeição padrão 18
5.7. Avaliação laboratorial 19
5.8. Genotipagem 21
5.9. Análise das sensações de fome e saciedade 21
5.10. Avaliação dietética 22
5.11. Avaliação de comportamento alimentar 22
5.12. Avaliação antropométrica 23
5.13. Avaliação da prática de atividade física 23
5.14. Análise estatística 24
6. RESULTADOS 25
7. DISCUSSÃO 39

8. CONCLUSÃO 39
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS 39
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 40
11. ANEXOS 52
Anexo 1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) 52
Anexo 2. Registro no ClinicalTrial.gov 55
Anexo 3. Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) 60
Anexo 4. Ficha de dados pessoais, socioeconômicos, história da obesidade e perfil alimentar 63
Anexo 5. Escala de Compulsão Alimentar Periódica (ECAP) 66
Anexo 6. *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) 68
Anexo 7. Ficha para registro dietético habitual 76
Anexo 8. Carboplex Malto®, Advanced Nutrition 68
Anexo 9. Protocolo de extração do DNA 77
Anexo 10. Escala Analógica Visual (EAV) 77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – HapMap Release 28 10
Figura 2 – Fluxograma de condução do estudo 18
Figura 3 – Comparações das sensações de fome inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180 29
Figura 4 – Comparações das sensações de satisfação inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180 29
Figura 5 – Comparações das sensações de plenitude gástrica inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180 30
Figura 6 – Comparações das sensações de desejo de comer inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180 30

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação das variáveis antropométricas inter genótipos 25
Tabela 2 – Comparação das variáveis laboratoriais inter genótipos 26
Tabela 3 – Comparação das variáveis CAP e atividade física inter genótipos 27
Tabela 4 – Comparação das variáveis de consumo energético, percentual de carboidratos, proteínas e lipídios do valor energético total, consumo energético por kg de peso corporal total e gramas de proteínas ingeridas por kg de peso corporal total, inter genótipos 28
Tabela 5 – Comparação das concentrações de leptina plasmática (ng/dL) inter e intra genótipos nos tempos T0 e T180 31

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a última Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF, 2008/2009) indicou que 14,8% do total dos adultos apresentaram índice de massa corporal (IMC) igual ou superior a 30 kg/m^2, caracterizando obesidade, um importante problema de saúde não somente no Brasil (IBGE, 2010), mas em todo o mundo, sendo mais prevalente nas Américas (WHO, 2015). Dados da pesquisa VIGITEL (Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico) de 2014, reforçam estes números, revelando que mais da metade da população brasileira encontra-se acima do peso considerado saudável. A obesidade, além de representar um transtorno social e econômico (ZHOU *et al.*, 2013), é fator de risco para outras diversas doenças crônicas, como diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares (DCV), alguns tipos de câncer e pode, ainda, favorecer o surgimento de colelitíase, problemas ortopédicos, infertilidade, dentre outras enfermidades que podem afetar a qualidade de vida do indivíduo (*National Institutes of Health*, 2013; BHASKARAN *et al.*, 2014).

A obesidade é uma doença complexa e, na maioria dos casos, de etiologia poligênica e multifatorial. Destes fatores, destacam-se alterações no estilo de vida, fatores emocionais e, principalmente, ambientais (ABESO, 2009/2010; BOUTIN & FROGUEL, 2001).

Dos fatores ambientais que tem impacto no peso corporal, os macronutrientes são os mais influentes, destacando-se os lipídios. Porém, estudos permanecem contraditórios quanto ao efeito dos diferentes tipos de lipídios dietéticos na lipogênese, o que poderá futuramente ser explicado pelas variações dos genes relacionados com a obesidade (HOOPER *et al.*, 2012; FOSTER *et al.*, 2010; BRUIJNZEEL *et al.*, 2013; FRAYLING *et al.*, 2007; PAQUOT *et al.*, 2012).

Em 2007, o SNP (*single nucleotide polymorphisms* ou polimorfismos em um único nucleotídeo) rs9939609, localizado no primeiro íntron do gene *fat mass and obesity associated* (*FTO*), localizado no cromossomo 16, foi fortemente associado com o IMC e a predisposição de

adultos e crianças à obesidade (FRAYLING *et al.*, 2007), possivelmente pelos efeitos no aumento da ingestão calórica e na diminuição da saciedade (GULATI *et al.*, 2013).

Polimorfismos comuns do *FTO* foram relacionados com IMC e obesidade em algumas populações. Um desses variantes genéticos, o rs9939609, foi indicado como fator de risco para a obesidade (DE LUIS *et al.*, 2012a), podendo afetar a homeostase energética, possivelmente pela influência do polimorfismo no eixo hipotalâmico-pituitário-tireóide como mecanismo potencial para o aumento da adiposidade (ARRIZABALAGA *et al.*, 2014). Existem evidências de que polimorfismos do gene *FTO* e a leptina sérica estejam relacionados com a variação na sensação de plenitude gástrica e influenciem a regulação da ingestão alimentar (DOUGKAS *et al.*, 2013; SHAHID *et al.*, 2013).

Com base nestes dados, nota-se a importância de se agregar cada vez mais conhecimentos acerca desta complexa doença e de fatores conexos, com o propósito de contribuir com o esclarecimento das causas da obesidade e, consequentemente, com futuras estratégias de prevenção e tratamento de tal patologia.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Obesidade

A obesidade é uma doença, caracterizada pelo acúmulo excessivo ou anormal de gordura corporal, que representa risco à saúde por ser fator de risco para diversas doenças crônicas, incluindo DM2, DCV e alguns tipos de câncer (WHO, 2015). Considerada um problema em países desenvolvidos, a obesidade está expressivamente em ascensão em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, particularmente em áreas urbanas. A obesidade mais do que dobrou no mundo, desde 1980 e, atualmente, 13% dos adultos acima de 18 anos de idade estão obesos. A maioria da população mundial vive em países onde complicações desenvolvidas em razão da obesidade, juntamente com o sobrepeso, matam mais do que aquelas relacionadas com o baixo peso (WHO, 2015).

Na POF realizada nos anos 2008 e 2009, o excesso de peso corporal foi diagnosticado em cerca de metade dos homens (50,1%) e das mulheres (48,0%). A obesidade foi observada em 14,8% do total dos adultos (12,5% dos homens e 16,9% das mulheres) (IBGE, 2010). Segundo o Vigitel (2014), 17,9% da população brasileira apresenta obesidade.

A obesidade pode resultar do desequilíbrio crônico entre ingestão e gasto energéticos, decorrente de mudanças no padrão de alimentação, com aumento do consumo de alimentos industrializados, os quais são densos em calorias e ricos em lipídios, e no decréscimo de atividade física, em virtude de formas de trabalho sedentárias, aumento do uso de meios de transporte que não exigem esforço físico e crescente urbanização (BLUNDELL, 1990).

Evidências sugerem que a inflamação crônica no tecido adiposo pode ter um papel importante no desenvolvimento de disfunções metabólicas relacionadas à obesidade. (XU *et al.*, 2003; HOTAMISLIGIL, 2006).

Os avanços no estudo da biologia do tecido adiposo permitiram o conhecimento acerca da função de órgão secretor de diversas substâncias bioativas ou adipocinas, como leptina,

adiponectina, TNF-α e resistina, não restringindo a função do tecido adiposo a um órgão de estoque energético, indicando que o tecido adiposo atua como órgão endócrino e central da regulação metabólica (AHIMA & FLIER, 2000; FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2007).

Por se tratar de uma doença complexa e multifatorial, o tratamento da obesidade sucede da mesma forma e deve ser realizado com acompanhamento de profissionais de saúde de diferentes áreas de atuação. Basicamente, existem três tipos de tratamento para a obesidade: o farmacológico, o cirúrgico e o dietético, os quais estarão indicados de forma combinada ou não, de acordo com a gravidade do problema e com a presença ou ausência de complicações associadas. Porém, mudanças de estilo de vida são fundamentais para obtenção de sucesso do tratamento (ABESO, 2009/2010).

Para indicação de tratamento farmacológico o paciente deve ser classificado com sobrepeso e apresentar comorbidade ou apenas ser classificado como obeso. Outro critério aceito para uso de fármacos é o insucesso na perda de peso com tratamento não farmacológico. Atualmente, no Brasil, os seguintes fármacos podem ser utilizados: femproporex, mazindol, sibutramina, orlistat e anfepramona, por serem medicamentos registrados para a finalidade em questão (Decreto Legislativo nº 273 de 2014). O tratamento cirúrgico para obesidade é indicado para indivíduos que não possuam contra indicações, diante de falha no tratamento clínico, com IMC igual ou superior a 35 kg/m^2, com uma ou mais comorbidades, ou superior a 40 kg/m^2 sem comorbidades. Quanto às técnicas de cirurgia bariátrica, a derivação gástrica em Y de Roux é considerada padrão ouro, sendo a mais realizada atualmente (ABESO, 2009/2010; Consenso Latino Americano de Obesidade, 2015), apresentando bons resultados na perda de peso e redução de algumas complicações metabólicas (LEE *et al.*, 2005).

De acordo com as Diretrizes Brasileiras de Obesidade da ABESO 2009/2010, há divergência sobre a melhor maneira de reduzir a ingestão calórica para promover o emagrecimento. Dentre as propostas apresentadas pela ABESO, a dieta balanceada baseia-se tipicamente em princípios científicos, preconizando 20 a 30% de lipídios, 55 a 60% de carboidratos e 15 a 20% de proteínas.

O objetivo das dietas balanceadas é permitir ao paciente a escolha de maior variedade de alimentos, adequação nutricional, maior aderência, resultando em perda de peso pequena, porém sustentada. São calculadas para promover um déficit de 500 a 1000 kcal por dia, o que poderá resultar em perda de cerca de 8% do peso corporal total e redução na gordura abdominal em um período que pode variar de 6 semanas a 6 meses.

2.2 Leptina, obesidade, regulação de fome e saciedade e rs9939609

O tecido adiposo é o principal local para armazenamento do excesso de energia, na forma de triglicerídeos, e contém vários tipos celulares, incluindo adipócitos (principalmente), preadipócitos, células endoteliais e células imunológicas. Na condição de balanço energético positivo (quando o consumo energético é superior ao gasto energético), o tecido adiposo armazena o excesso de energia como triglicerídeos nas gotículas de lipídios dos adipócitos por meio do aumento da quantidade de adipócitos (hiperplasia) ou no aumento do tamanho dos adipócitos (hipertrofia) (HAUSMAN *et al.*, 2001). A quantidade de adipócitos é majoritariamente determinada na infância e adolescência e permanece constante na vida adulta, tanto em indivíduos eutróficos quanto em obesos, mesmo após emagrecimento importante (SPALDING *et al.*, 2008). O tecido adiposo também tem importante função endócrina ao secretar várias adipocinas, como citocinas e hormônios, envolvidas com homeostase energética e inflamação (JERNAS *et al.*, 2006; SKURK *et al.*, 2007). Um destes hormônios é a leptina, descoberta em 1994 pelo geneticista molecular Jeffrey Friedman, da Universidade de Rockefeller, Nova York. A origem de seu nome vem do grego *leptos*, que significa magro (HALAAS *et al.*, 1995; SCHWARTZ *et al.*, 1999).

A leptina é um hormônio peptídico anorexígeno envolvido com a obesidade e uma das adipocitocinas primariamente secretadas pelos adipócitos brancos. Portanto, a concentração deste hormônio reflete a quantidade de energia armazenada na gordura corporal e as concentrações circulantes são diretamente proporcionais à quantidade de gordura corporal (DARDENO, 2010).

Este hormônio compõe o sistema neuroendócrino, é formado por 167 aminoácidos e atua no consumo e gasto energéticos. Via sinalização aferente no hipotálamo, está envolvida no controle de estoque de gordura do organismo e na manutenção da homeostase energética, exercendo influências na sensação de fome, no consumo e gasto energéticos (XU *et al.*, 2014; DARDENO, 2010; FRIEDMAN & HALAAS, 1998). A leptina atravessa a barreira hematoencefálica via transporte saturável, atua como sensor de gordura, mantendo um *set point* para depósitos de gordura no corpo, age em centros específicos no cérebro que regulam as sensações de saciedade (ZHOU *et al.*, 2013).

Mutações/polimorfismos nos loci ou receptores de leptina podem resultar em obesidade ou síndrome metabólica. Recentemente, desordens do sistema nervoso central (SNC) foram reconhecidas como tendo potencial papel na gênese da obesidade. A leptina liga-se a receptores (ObRs) localizados no SNC e em vários tecidos periféricos (DARDENO, 2010).

A concentração de leptina reflete a quantidade de energia armazenada na gordura corporal e suas concentrações circulantes são diretamente proporcionais à quantidade de gordura corporal e seguem um ritmo circadiano, sendo mais elevados durante a noite (DARDENO, 2010). A leptinemia (CONSIDINE *et al.*, 1996) e a expressão do RNAm da leptina no tecido adiposo (KOUIDHI *et al.*, 2010) estão elevadas em indivíduos obesos em virtude da quantidade elevada de tecido adiposo, porém, este hormônio pode não produzir supressão da fome, provavelmente devido ao desenvolvimento de resistência à ação do hormônio (FRIEDMAN & HALAAS, 1998).

A leptina também tem função importante na regulação da homeostase glicêmica, independente do consumo alimentar, gasto energético ou peso corporal. Este hormônio melhora a sensibilidade à insulina no fígado e no músculo esquelético e regula a função da célula B pancreática (MARROQUÍ *et al.*, 2012). Em virtude do aumento da utilização da glicose e do metabolismo oxidativo da glicose nos adipócitos, a insulina indiretamente promove produção de leptina (JIANG *et al.*, 2015). Citocinas pró inflamatórias aumentam a síntese e liberação de leptina, a qual em retorno contribui para manter o estado inflamatório na obesidade (PAZ-FILHO *et al.*, 2012).

Além do tecido adiposo, verifica-se expressão de leptina em outros tecidos, como placenta, ovários, epitélio mamário, medula óssea e tecido linfoide (DARDENO, 2010).

A leptina mantém a homeostase energética por meio de ajustes do apetite/consumo alimentar e gasto energético (DARDENO, 2010) e também modula a atividade vagal aferente, o que pode fundamentar sua ação regulatória de apetite (KENTISH *et al.*, 2013).

Entende-se como apetite, o desejo físico e emocional por um alimento específico. Fome é a sensação que expressa a necessidade de comer, enquanto a saciedade refere-se a eventos pós

prandiais, que inclui diminuição da fome e supressão da ingestão alimentar na refeição seguinte. Satisfação é o processo envolvido no decurso da alimentação, que resulta no término da ingestão alimentar, limitando a quantidade de alimentos ingeridos na refeição (BLUNDELL, 1990; BLUNDELL & HALFORD, 1994; BURTON-FREEMAN, 2000; STRUBBE & WOODS, 2004; CUMMINGS & OVERDUIN, 2007).

Algumas desordens alimentares podem estar relacionadas com o desenvolvimento da obesidade (HUDSON *et al.*, 2007). Dentre as desordens alimentares relatadas na literatura, destaca-se a compulsão alimentar, caracterizada por episódios recorrentes de alimentação em quantidades significativamente maiores em um curto período de tempo do que a maioria das pessoas comeriam em circunstâncias semelhantes, com episódios marcados por sentimentos de perda de controle. O indivíduo com compulsão alimentar são capazes de comer muito rápido, mesmo não estando com fome e, desta forma, podem ter sentimentos de culpa, sentir-se envergonhados ou com repulsa e podem comer compulsivamente sozinhos para esconder o seu comportamento. Esta desordem está associada com angústia e ocorre, em média, ao menos uma vez por semana pelo período de 3 meses (American Psychiatric Association, 2015).

Dentre os fatores que podem influenciar a presença frequente de compulsão alimentar em indivíduos com obesidade, encontram-se fatores psicológicos, ambientais e/ou biológicos, inclusive hormonais e genéticos, como mostrado nos estudos a seguir. Em estudo com 38 mulheres com sobrepeso ou obesidade, Geliebter *et al.* (2005) verificaram que indivíduos com transtorno de compulsão alimentar apresentavam grelina reduzida em jejum e que este hormônio reduzia pouco no período pós prandial, promovendo fraca sinalização de saciedade. Bulik *et al.* (2003) e Hudson *et al.* (2006) verificaram que, assim como a obesidade, a compulsão alimentar tem contribuição familiar. Porém, estes traços são independentes, já que existe obesidade sem haver compulsão alimentar, assim como há compulsão alimentar sem resultar em obesidade. Yanovski *et al.* (1993) observaram, em pesquisa realizada com 128 homens e mulheres com obesidade, que o transtorno de compulsão alimentar está associado com desordens psiquiátricas.

Dos fatores genéticos, o gene *FTO*, também conhecido como *fat mass and obesity associated gene*, tem sido estudado em diversos países desde que foi observada relação do mesmo com o IMC elevado.

Pela técnica de "exon trapping", Peters *et al.* (1999) clonaram um novo gene de uma região de várias centenas de kb deletados pela mutação do rato tipo "dedos do pé fundidos" ou "fused toes" (FT). Eles nomearam o gene como "fatso" ("gorducho"), ou Fto, dado o seu tamanho grande (PETERS *et al.*, 1999). O gene *FTO* está localizado no cromossomo 16 (localização citogenética: 16q12.2), possui 9 exons e é uma proteína nuclear do AlkB relacionado ao ferro não heme. O *FTO* é extensamente expresso em vários tecidos humanos, com maiores níveis de expressão no cérebro e nas ilhotas pancreáticas.

Diversos estudos indicam o papel do *FTO* como essencial para o desenvolvimento normal dos sistemas nervoso central e cardiovascular em seres humanos e apontam que polimorfismos do SNP rs9939609 do gene *FTO* apresentam forte associação com valores de IMC, risco para obesidade, DM2 e DCV (FRAYLING *et al.*, 2007; SCUTERI, 2007; AHMAD *et al.*, 2010; LAPPALAINEN *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2013).

SNP é uma variação na sequência de ácido desoxirribonucleico (*d*eox*yribonucleic acid* - DNA) que afeta somente uma base (adenina, timina, citosina ou guanina) na sequência do genoma. Variantes genéticos com freqüência do alelo menos comum em pelo menos 1% da população são chamadas polimorfismos (e não mutações) e polimorfismos comuns podem acontecer em cerca de 40 a 50% da população. Foram catalogados mais de 11 milhões de SNP no genoma humano. Como há diferenças entre as diversas populações humanas, um polimorfismo comum em um grupo geográfico ou étnico pode ser muito raro em outro, porém são a classe mais prevalente de variação genética (The 1000 Genomes Project Consortium, 2010).

A variante do gene *FTO* mais estudada é a rs9939609 (T>A), desde que Frayling *et al*. (2007), em estudos de associação genômica ampla (*genome-wide association study*, GWAS), notaram que alguns SNP, como o rs9939609, localizado no primeiro íntron do gene *FTO*, estavam

fortemente associados com o IMC e com predisposição de adultos e crianças à obesidade, possivelmente pelos efeitos no aumento da ingestão energética e diminuição da saciedade.

O SNP rs9939609 foi reconhecido como fator de risco para a obesidade e associado com peso corporal, relação cintura/quadril (RCQ), massa de gordura, concentrações de proteína C reativa e leptina em caucasianos obesos de grau 3 com o alelo A (DE LUIS *et al.*, 2012a; DE LUIS *et al.*, 2012b). Tais associações em povos sul-asiáticos ainda não está bem estabelecida e em chineses e povos da Oceania é divergente (CHANG *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2008; HOTTA *et al.*, 2008). A frequência do polimorfismo do rs9939609 foi identificada em diversas populações, conforme é possível ser visualizado no gráfico do HapMap (*haplotype map of the human genome*), o qual mostra maior frequência nas populações CEU, YRI, ASW, LWK, MKK E TSI (figura 1).

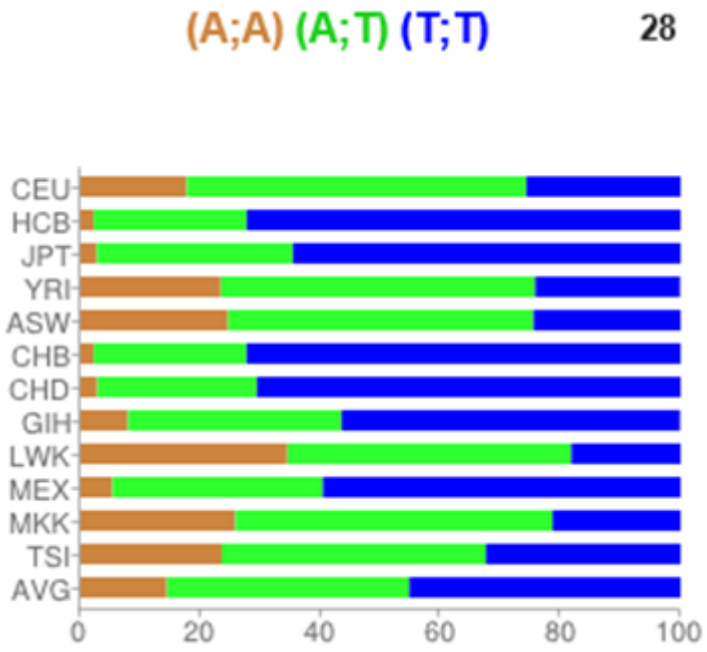

Figura 1: *HapMap Release* 28. Legenda: CEU – *Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection* (Europeus); HCB - *Han Chinese* (Chineses); JPT - *Japanese Tokyo* (Japoneses de Tokyo); YRI - *Yoruba African* (Africanos Ioruba); ASW - *African ancestry in Southwest USA* (indivíduos com ascendência Africana, no sudoeste dos EUA); CHB - *Han Chinese in Beijin* (chineses Han em Beijing), China; CHD - *Chinese in Metropolitan Denver, Colorado* (Chineses em Denver, Colorado); GIH - *Gujarati Indians in Houston, Texas* (Indianos Gujarati em Houston, Texas); LWK - *Luhya in Webuye, Kenya* (povo Luhya no Webuye, Quênia); MEX - *Mexican ancestry in Los Angeles, California* (indivíduos com ascendência mexicana, em Los Angeles, CA); MKK - *Maasai in Kinyawa, Kenya* (povo Maasai em Kinyawa, Quênia); TSI - *Toscani in Itália* (toscanenses na Itália); AVG - *Average* (média matemática de todas as amostras dos grupos acima) (*International HapMap Consortium*, 2003).

Mesmo com as pesquisas realizadas acerca dos polimorfismos do gene *FTO*, os mecanismos funcionais que explicariam a relação do *FTO* na obesidade permanecem desconhecidos, assim como a forma como estes mecanismos ocorrem (HOED *et al.*, 2009; KARRA *et al.*, 2013). Porém, alguns estudos tem evidenciado que o polimorfismo do *FTO* rs9939609 pode afetar a homeostase energética. Em pesquisa realizada na Espanha, concluiu-se que o alelo A do rs9939609 está associado com baixo gasto energético em repouso, concentrações elevadas de leptina e tireotropina plasmáticas, sugerindo possível influência do gene no eixo hipotalâmico-pituitário-tireóide como mecanismo potencial de aumento da adiposidade (ARRIZABALAGA *et al.*, 2014).

Ainda na Espanha, outro grupo de pesquisadores encontrou relação do gene *FTO* com a leptina sérica e, consequentemente, com o controle do balanço energético. Os pesquisadores concluiram que o hormônio poderia ser um intermediário reforçando a associação entre o polimorfismo do SNP rs9939609 do gene *FTO* e a adiposidade (LABAYEN *et al.*, 2011).

Outro estudo, realizado com mulheres adultas paquistanesas, concluiu que o SNP rs9939609 está associado com o IMC e com o risco de obesidade e que a associação dessa variante com a glicemia em jejum, insulina plasmática e leptina elevadas indica sua possível influência no metabolismo energético de mulheres adultas e predisposição à obesidade e ao DM2 (SHAHID *et al.*, 2013).

Pesquisadores da Universidade de Maastricht, na Noruega, em estudo desenvolvido com indivíduos eutróficos e com sobrepeso (IMC de 25,0 ± 3,1 kg/m^2), encontraram associações entre respostas pós prandiais de fome e saciedade do SNP rs9939609 nos indivíduos com os genótipos AA a AT, o que os levou a concluir que estes indivíduos estão predispostos a redução das respostas de fome e saciedade no período pós prandial. Segundo o estudo, o efeito do polimorfismo do *FTO* pode ser mediado por uma interação epistática envolvendo variantes nos genes *DNMT3B* (*DNA-methyltransferase 3 beta*) e *LEPR* (receptor de leptina). A interação com o SNP rs992472 do gene *DNMT3B* indica que a metilação do DNA, que é um processo epigenético, está envolvida com a regulação do consumo alimentar (HOED *et al.*, 2009).

Por outro lado, Karra *et al.* em 2013 verificaram, em 359 homens eutróficos, ausência de efeito do polimorfismo em questão nas concentrações plasmáticas de leptina de jejum e com mudanças pós-prandiais nas escalas de satisfação.

Polimorfismos genéticos podem ter ou não efeitos significativos na estrutura ou função do produto do gene. Diferentes abordagens experimentais podem ser usadas para identificar variantes genéticas que podem modificar os efeitos de fatores dietéticos ou influenciar preferências alimentares. Dependendo do numero de SNP no gene e se algum deles tem efeitos funcionais conhecidos, pesquisas podem ser feitas utilizando-se SNP individuais ou combinações de SNPs, como haplótipos. O entendimento sobre a base genética para variabilidade individual em resposta a bioativos alimentares poderá fornecer uma medida mais precisa da exposição de tecidos-alvo de interesse a esses componentes e seus metabólitos e possibilitar melhor entendimento dos efeitos na saúde humana e riscos para doenças. A identificação de importantes interações gene-dieta não somente poderá beneficiar indivíduos à procura de orientações nutricionais individualizadas, como poderá aprimorar as recomendações de saúde pública por fornecer evidências científicas sensatas conectando componentes dietéticos específicos a vários resultados de saúde da população (FENECH *et al.*, 2011).

3. JUSTIFICATIVA

Ainda não estão completamente esclarecidos os efeitos do gene *FTO* e seu polimorfismo no SNP rs9939609 sobre o IMC, a fome, a saciedade e a leptinemia, sendo úteis os estudos que possam contribuir para o entendimento destas características, colaborando com o conhecimento acerca desta doença de importância mundial.

Ademais, salienta-se que são muito escassos os estudos com o gene *FTO* no Brasil, sendo necessários estudos que avaliem a frequência de ocorrência do SNP nas diferentes populações, dada a variabilidade de ocorrência descrita acima. Também são igualmente escassos estudos que avaliaram a ocorrência deste polimorfismo em indivíduos com obesidade avançada, como é o caso do presente estudo.

Neste sentido, o presente estudo poderá contribuir com a elucidação de questões importantes referentes a fome e saciedade, diferenciando aqueles indivíduos que apresentam polimorfismo no *FTO* daqueles que não o apresentam. Estes conhecimentos podem potencializar a individualização da conduta dietética e, consequentemente, aumentar a eficácia do tratamento da obesidade.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do polimorfismo no rs9939609 do gene *FTO* na fome e na saciedade e leptina plasmática pré e pós prandiais em mulheres adultas, com obesidade grau III.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os genótipos do rs9939609 no gene *FTO* das voluntárias;
- Dispor as voluntárias em genótipos (TT, AT e AA), a partir da identificação dos mesmos;
- Quantificar as concentrações de leptina plasmática pré e pós prandiais;
- Avaliar, por meio de escala analógica visual, as sensações relacionadas com a ingestão alimentar, pré (T0) e pós prandiais (T30, T60, T90, T120, T150, T180);
- Caracterizar os genótipos quanto às variáveis antropométricas, de idade, glicemia, lipemia, HOMA-IR, HOMA BETA, ingestão calórica, compulsão alimentar e nível de atividade física;
- Analisar o comportamento da leptina plasmática e das sensações relacionadas com a ingestão alimentar, pré (T0) e pós prandiais (T180), em cada genótipo do gene *FTO*;
- Comparar a evolução da leptina plasmática e da fome e da saciedade intra e entre genótipos.

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

5.1 Aspectos éticos

O presente estudo está vinculado a um projeto maior, intitulado "*Associação entre a alteração do gene FTO com o hormônio grelina e o consumo alimentar de obesos*". Foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) sob o Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) nº 31573114,1.0000.5257 (anexo 1) e cadastrado no *Clinical Trials* sob o número NCT02598037 (anexo 2).

Todas as voluntárias assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (anexo 3) depois de esclarecidas quanto ao projeto, às suas etapas e aos riscos e benefícios do estudo (em nível individual e coletivo).

5.2 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo analítico transversal.

Foram recrutadas e selecionadas voluntárias, de forma contínua, no período de março a novembro de 2015.

5.3 Local e captação das voluntárias

O estudo foi realizado com voluntárias recrutadas no Grupo de Resgate à Autoestima e Cidadania do Obeso (GRACO) e no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), ambos localizados no município do Rio de Janeiro.

O GRACO, é uma ONG (Organização Não Governamental), sem fins lucrativos, de caráter social e assistencial, fundada em 4 de dezembro de 2000 a partir da iniciativa de sua presidente, Rosimere Lima da Silva, e em amizade e parceria com profissionais do HUCFF, para que pacientes obesos e suas famílias tivessem suporte clínico, socioeconômico e psicológico, para facilitar o

alcance de metas pré e pós operatórias de cirurgia bariátrica, tendo sido atendidas mais de 4000 pessoas até o presente momento. Tem como objetivos promover a auto-estima, o acesso à saúde, a reeducação alimentar, o monitoramento da saúde física e psicológica de obesos mórbidos e seus familiares e a inclusão social e profissional destas pessoas e participar do desenvolvimento de pesquisas na área de obesidade de suas complicações.

O recrutamento das voluntárias foi realizado por meio de uma pré seleção de prontuários dos indivíduos participantes do GRACO, pela mídia social *Facebook* e por correio eletrônico (*e-mail*).

5.4 Critérios de elegibilidade

A população estudada foi constituída por adultos, com idade entre 20 e 45 anos de idade, do sexo feminino, que não se encontravam na menopausa, com IMC superior ou igual a 40 kg/m^2 e inferior a 60 kg/m^2, com tempo de diagnóstico da obesidade igual ou superior a três anos.

Não foram elegíveis indivíduos que apresentassem insuficiência renal, insuficiência cardíaca crônica, que estivessem em tratamento para câncer, gestantes, lactantes, sob uso de corticoides ou medicamentos para emagrecer e aqueles submetidos à cirurgia bariátrica.

Foram excluídos os voluntários que não finalizaram todas as etapas do estudo ou que apresentaram alguma intercorrência listada anteriormente durante o estudo.

5.5 Fluxograma do estudo

Na figura 2 é apresentado o fluxograma de condução do estudo.

Por meio das suas fichas de cadastro na ONG GRACO, que contém informações antropométricas e de saúde, as voluntárias foram pré selecionadas e contactadas pessoalmente, por telefone ou e-mail. Aquelas que aceitaram participar, após terem sido esclarecidas sobre a pesquisa, assinaram o TCLE e preencheram 3 questionários: de dados pessoais (anexo 4), escala de compulsão alimentar periódica (ECAP) (anexo 5) e questionário internacional de atividade física (*International Physical Activity Questionnaire*, IPAQ), versão curta (anexo 6). Neste mesmo dia,

foram medidos peso e estatura corporais, calculado o IMC e entregues os impressos para preenchimento de registros dietéticos (anexo 7). Após conferência dos critérios de elegibilidade, as voluntárias eram agendadas e instruídas para o segundo encontro, para o qual as voluntárias deveriam estar em jejum de 12 horas, sem restrição de ingestão de água ou uso de medicamentos, e que levassem seus registros dietéticos de 3 dias não consecutivos, preenchidos em casa durante o período compreendido entre o primeiro e o segundo encontros.

No segundo encontro, foi realizada coleta de sangue em jejum no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR), no CCS da UFRJ, para análise do polimorfismo no *FTO*, leptinemia, lipemia, insulinemia e glicemia. Ainda em jejum, era preenchida a escala analógica visual (EAV), no tempo zero (T0). Após a coleta, as voluntárias ingeriam a refeição padrão e eram encaminhadas para uma sala onde assistiam a filmes e, a cada meia hora, preenchiam novas EAV (T30, T60, T90, T120, T150 e T180). Decorridos os 180 minutos, as voluntárias direcionavam-se novamente ao LACFAR para a segunda coleta sanguínea, desta vez somente para análise de leptinemia pós prandial. Ao final, as voluntárias entregavam seus registros dietéticos preenchidos, os quais eram conferidos pelas pesquisadoras com cada voluntária, para verificar seu correto preenchimento.

As variáveis antropométricas, laboratoriais de lipemia e glicemia, dietéticas e questionários de atividade física e compulsão alimentar foram avaliados para caracterização das mulheres do presente estudo.

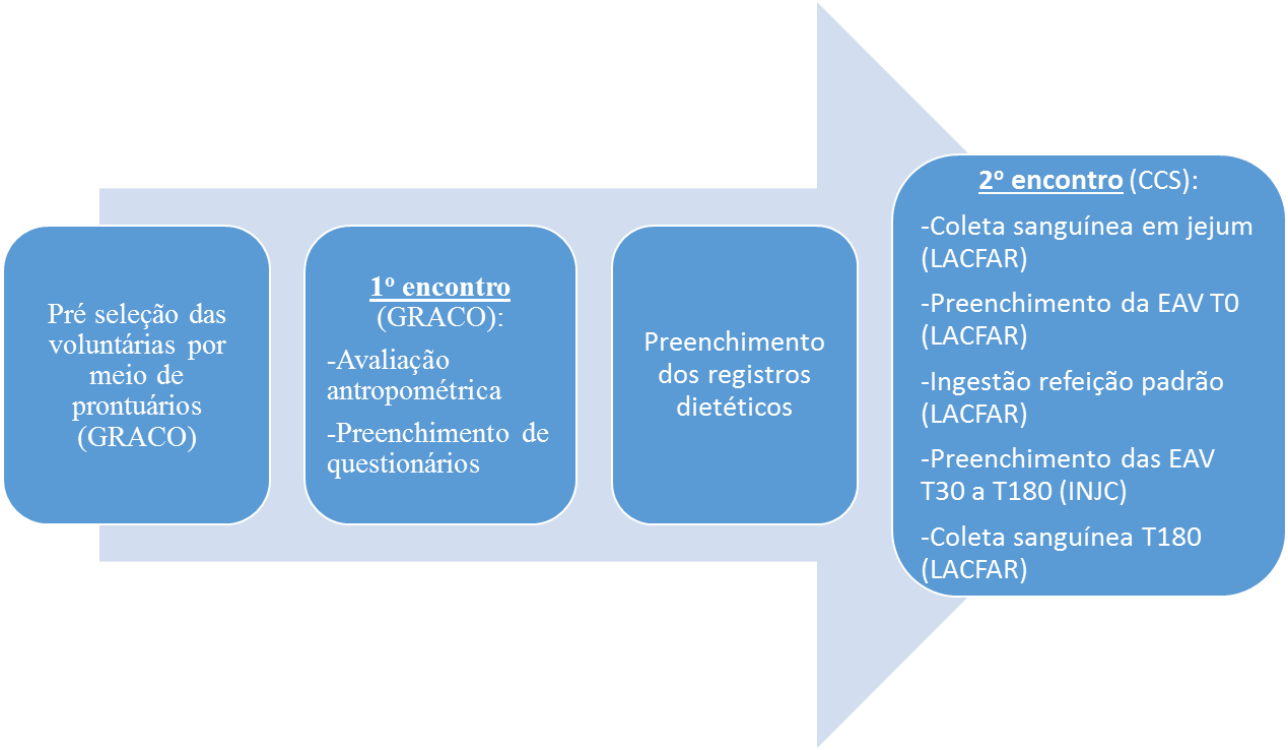

Figura 2: Fluxograma de condução do estudo

5.6 Refeição padrão

Cada refeição foi preparada individualmente, momentos antes de seu consumo, a fim de ofertar 1/3 da taxa metabólica em repouso (TMR) de cada voluntária, calculadas utilizando-se peso atual, e as mesmas proporções de macronutrientes (56% de carboidratos, 18% de proteínas e 26% de lipídios) e o mesmo volume (350 mL) para cada voluntária. O valor energético das refeições variou entre 551 e 832 Kcal.

As refeições oferecidas às voluntárias eram compostas por maltodextrina flavorizada (fonte glicídica) (Carboplex Malto®, Advanced Nutrition) (anexo 8), leite em pó desnatado (fonte protéica e glicídica), óleo de soja (fonte lipídica) e água mineral potável a fim de constituir um *shake* e padronizar o volume da refeição em 350 mL. A maltodextrina foi a fonte de carboidrato escolhida por ser comumente utilizada em estudos envolvendo obesidade e diabetes *mellitus* (GARGARI *et al.*, 2013; BAER *et al.*, 2011).

As quantidades de leite, maltodextrina e óleo variaram, respectivamente, entre 74 e 112 g, 42 e 64 g e 16 e 24 g.

Para cálculo da TMR, foram utilizadas as seguintes equações de predição para mulheres entre 18 e 30 anos de idade e entre 30 e 60 anos, respectivamente (FAO/WHO, 1985):

- 14,7 X peso corporal (em kg) + 496 kcal
- 8,7 X peso corporal (em kg) + 829 kcal

Foi observado o consumo completo da refeição por cada voluntária para garantir que todo o conteúdo fosse ingerido e para que a contagem dos tempos (T30, T60, T90, T120, T150, T180) se desse a partir do exato momento do término da refeição.

5.7 Avaliação laboratorial

As pacientes foram orientadas a comparecer, em jejum de doze horas, ao LACFAR, onde as amostras de sangue foram coletadas por profissionais capacitados através de punção venosa no antebraço ou na mão.

Os tubos de EDTA que seriam utilizados para análise de leptina plasmática (T0 e T180) foram centrifugados para separação do plasma, o qual era aliquotado em tubos de 1,5 mL. Para genotipagem, foi utilizado sangue integral, a partir de tubos de EDTA não centrifugados.

As amostras de sangue, para genotipagem do *FTO*, e de plasma, para análises de leptina basal e pós prandial, foram armazenadas em tubos eppendorf® de 1,5 mL à temperatura de -80ºC por, no máximo, 9 meses, até que as análises fossem realizadas.

Os tubos de sangue integral foram encaminhados, congelados, à FIOCRUZ, para genotipagem, e os de plasma transportados ao Laboratório Especializado em Análises Científicas (LEAC) para análise hormonal. As análises de lipemia, insulinemia e glicemia foram realizadas pelo LACFAR.

A avaliação do colesterol total, triglicerídeos e lipoproteínas de alta densidade (*high density lipoprotein* - HDL-c) foi realizada por método enzimático, ao passo que lipoproteínas de baixa

densidade (*low density lipoprotein* - LDL-c) e lipoproteínas de muito baixa densidade (*very low density lipoprotein* - VLDL-c) foram calculadas com base na equação de Friedewald (1972). Os valores de referência utilizados para lipemia foram os da V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção de Aterosclerose (2013).

A glicose e a insulina foram analisadas pelos métodos enzimático e eletroquimioluminescência, respectivamente, sendo considerados valores normais de glicemia aqueles inferiores a 100 mg/dL (SBD, 2014-2015).

Os índices de HOMA (*Homeostasis Model Assessment*) foram obtidos por meio de cálculos fundamentados nas dosagens de insulina e glicose séricas em jejum, com o objetivo de determinar resistência à insulina (RI) (HOMA-IR) e capacidade funcional das células beta do pâncreas (HOMA BETA) (MATTHEWS *et al.*, 1985).

$$HOMA - IR = \frac{glicemia\ em\ jejum\ X\ 0{,}0555\ X\ insulina\ em\ jejum}{22{,}5}$$

$$HOMA\ BETA = \frac{20\ X\ insulina\ em\ jejum}{(glicemia\ em\ jejum\ X\ 0{,}0555) - 3{,}5}$$

Os resultados do HOMA-IR foram analisados considerando que para IMC acima de 27,5 kg/m^2, valores acima de 3,60 representam RI e, quanto maior o valor encontrado, maior a RI (STERN *et al.*, 2005; AL-MAHMOOD *et al.*, 2006). Os valores de referência do HOMA BETA estão na faixa de 167,0 a 175,0 (MATTHEWS *et al.*, 1985).

A leptina foi avaliada por meio do método Luminex, utilizando-se o painel de hormônios intestinais humanos, kit Milliplex da Merck-Millipore®.

5.8 Genotipagem

A extração do DNA foi realizada no Laboratório de Genética Humana da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), a partir de amostras de sangue integral, utilizando-se o kit da *Invitrogen*®. As etapas de extração encontram-se no anexo 9.

O polimorfismo no gene *FTO*, a partir do DNA extraído, foi detectado utilizando-se o ensaio de genotipagem TaqMan (ID c_30090620_10, Applied Biosystems). A genotipagem do SNP foi realizada a partir do ensaio de discriminação alélica utilizando-se o sistema de *Real Time Polymerase Chain Reaction* (PCR em tempo real) *Step One Plus*™ e os genótipos foram lidos por intermédio de software automatizado (SDS 2.3, Applied Biosystems, Foster City, CA). As reações ocorreram em volumes de 5 µl, adotando-se o protocolo de amplificação de 95ºC por 10 minutos, seguido por 50 ciclos de 95ºC por 15 segundos e, então, 60ºC por 1 minuto e meio.

As voluntárias foram identificadas como TT, AT e AA, a partir da verificação de ausência (TT) ou presença de polimorfismo em um (AT) ou dois (AA) alelos.

5.9 Avaliação das sensações de fome e saciedade

Foi utilizada EAV (anexo 10) para avaliação das sensações de fome e saciedade. Esta escala é composta por 8 perguntas e cada resposta é informada pela marcação de uma linha vertical cruzando outra linha horizontal, que mede 10 cm, no ponto relativo à sensação daquele momento específico. Cada extremidade desta linha horizontal corresponde a um extremo de sensação (FLINT *et al.*, 2000).

As perguntas da escala foram: “quanta fome você sente?”; “quão satisfeito você se sente?”; “quão completo (“cheio”) você se sente?”; “quanto você pensa que pode comer?”; “você gostaria de comer algo doce?”; “você gostaria de comer algo salgado?”; você gostaria de comer um tira-gosto?”; “você gostaria de comer algo gorduroso?”.

Foram respondidas sete EAV por voluntária, nos tempos 0, (jejum) e 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após o término da ingestão da refeição padrão.

A quantificação da variável foi realizada por meio da medição da distância entre a extremidade esquerda da linha até a marca vertical, com auxílio de régua.

5.10 Avaliação dietética

As voluntárias foram orientadas a preencher três registros dietéticos, de três dias não consecutivos (WILLETT, 1998), retratando dois dias típicos (dias de semana) e um dia atípico (fim de semana ou feriado). Estes registros foram utilizados para estimar a ingestão dietética habitual e, desta forma, caracterizar a população estudada.

Todos os registros dietéticos foram analisados no *software* de avaliação nutricional Diet Pro 5i, versão 2008, utilizando-se, preferencialmente, como base de dados a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). Para a ingestão calórica, considerou-se como normocalórica a ingestão entre 25 a 30 calorias por quilograma de peso corporal atual por dia (I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, 2005). Foram considerados como valores de referência para carboidratos, proteínas e lipídios, os valores de 55 a 60%, 15 a 20% e 20 a 30% do valor energético total (VET) (*National Institutes of Health*, 1998).

5.11 Avaliação de compulsão alimentar

Para caracterização da população estudada, os dados relacionados com compulsão alimentar foram avaliados utilizando-se a ECAP (Escala de Compulsão Alimentar Periódica) traduzida para o português brasileiro, adaptada e validada (FREITAS *et al.*, 2001). Tal questionário foi desenvolvido por Gormally *et al.* (1982) na década de 80 e vem sendo utilizado para identificar a compulsão alimentar periódica (CAP) em indivíduos obesos.

O ECAP contém 16 perguntas, que devem ser respondidas objetivamente, marcando-se a resposta mais adequada. São oferecidas 3 ou 4 respostas e, dentre estas, o indivíduo deve escolher apenas uma para assinalar. As respostas de cada item refletem a gravidade de cada característica avaliada.

Com base na grade de correção da ECAP as afirmativas recebem uma pontuação, de 0 a 3 pontos, e o escore final dá-se pelo resultado da soma dos pontos de cada item. De acordo com a pontuação final, as voluntárias seriam classificadas, porém não diagnosticadas, como sem CAP (≤ 17 pontos), CAP moderada (≥ 18 e ≤ 26 pontos) ou CAP grave (≥27 pontos) (MARCUS *et al.*, 1985).

5.12 Avaliação antropométrica

O peso e a estatura foram medidos no ambulatório da GRACO e no Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC), utilizando-se estadiômetro e balança mecânica, com escala de 1cm e 100g, respectivamente, de acordo com o preconizado pelo Ministério da Saúde e utilizados para o cálculo do IMC. Este índice foi calculado e analisado de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) (WHO, 1998).

Para perímetro da cintura (PC), foi utilizada fita métrica inextensiva e inelástica, medindo no ponto de maior extensão abdominal, com os braços e abdome das voluntárias relaxados, sendo considerado PC acima de 88 cm, para mulheres, como risco muito aumentado de complicações metabólicas associadas com a obesidade. Para medir o perímetro de quadril (PQ) utilizou-se a mesma fita métrica, no ponto de maior extensão do quadril. Para cálculo da relação cintura/quadril (RCQ) de cada voluntária, o respectivo valor de PC foi dividido pelo PQ (LOHMAN, 1988; WHO, 2008).

5.13 Avaliação da prática de atividade física

Também com o intuito de caracterizar a população estudada, a prática de atividade física foi avaliada por meio da versão curta do IPAQ (questionário internacional de atividade física, *international physical activity questionnaire*), validada para o português brasileiro (MATSDUDO *et al.*, 2001).

O IPAQ foi originalmente desenvolvido com a finalidade de estimar o nível prático de atividade física. Por meio deste questionário, as voluntárias poderiam ser classificadas como sedentárias, insuficientemente inativas, ativas ou muito ativas (MATSUDO *et al.*, 2001).

Este questionário considera sedentários aqueles que não realizam nenhuma atividade física por pelo menos 10 minutos contínuos durante a semana; insuficientemente ativos os que praticam atividades físicas por pelo menos 10 minutos contínuos por semana, porém, de maneira insuficiente para ser classificados como ativos; ativos os que fazem atividade física vigorosa pelo menos 3 dias por semana, com duração de pelo menos 20 minutos cada ou os que fazem atividade moderada ou caminhada pelo menos 5 dias por semana, com pelo menos 30 minutos de duração ou qualquer atividade somada realizada em 5 ou mais dias na semana e com duração de pelo menos 150 minutos por semana. Há ainda a classificação de indivíduos como muito ativos, quando estes realizam atividade vigorosa pelo menos 5 dias por semana com duração de pelo menos 30 minutos cada ou atividade vigorosa pelo menos 3 dias por semana de pelo menos 20 minutos cada, somando com atividade moderada e/ou caminhada por pelo menos 5 dias na semana, com duração de pelo menos 30 minutos cada (MATSUDO *et al.*, 2001).

5.14 Análise estatística

As variáveis quantitativas foram apresentadas como média, desvio padrão e intervalo de confiança. Foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparações entre genótipos e o teste de Wilcoxon para comparações intra genótipos. Também foi utilizado o teste de *one way* ANOVA com pós-teste de Bonferroni para avaliação do comportamento das sensações relacionadas com a ingestão alimentar.

Todos os resultados foram obtidos por meio do programa de análise estatística SPSS versão 21.0, considerando significativos valores de $p<0,05$.

6. RESULTADOS

Foram avaliadas 38 mulheres, com frequência genotípica de TT, AT e AA de 30,5% (n=13), 49,4% (n=16) e 20,0% (n=9), respectivamente, estando em equilíbrio pelo princípio de Hardy-Weinberg. A frequência alélica foi de 55% do alelo T e 45% do alelo A.

Não houve diferença entre os genótipos nas variáveis antropométricas e laboratorais (tabelas 1 e 2).

Todas as mulheres apresentaram obesidade grau III e PC indicativo de risco muito elevado de complicações metabólicas (tabela 1).

Tabela 1: Comparação das variáveis antropométricas inter genótipos (média ± DP (IC 95%))

	TT (n=13)	AT (n=16)	AA (n=9)	p-valor
Idade (anos)	33,77 ± 8,30 (28,75 – 38,78)	35,31 ± 7,80 (31,15 – 39,47)	38,33 ± 4,69 (34,73 – 41,94)	0,372
Peso (kg)	118,30 ± 10,80 (111,77 – 124,83)	121,66 ± 16,89 (112,66 – 130,66)	125,38 ± 20,24 (109,82 – 140,94)	0,730
IMC (kg/m^2)	45,10 ± 3,78 (42,82 – 47,39)	46,52 ± 5,62 (43,53 – 49,51)	47,03 ± 5,52 (42,79 – 51,28)	0,686
PC (cm)	113,08 ± 8,68 (107,83 – 118,32)	117,16 ± 9,20 (112,25 – 122,06)	118,11 ± 15,10 (106,50 – 129,72)	0,554
PQ (cm)	137,09 ± 8,04 (132,24 – 141,95)	137,51 ± 12,78 (130,71 – 144,,32)	142,28 ± 13,07 (132,24 – 152,32)	0,462
RCQ	0,83 ± 0,06 (0,79 – 0,86)	0,86 ± 0,06 (0,82 – 0,89)	0,83 ± 0,08 (0,77 – 0,89)	0,544

Legenda: IMC: índice de massa corporal; PC: perímetro de cintura; PQ: perímetro de quadril: RCQ: relação perímetro de cintura/perímetro de quadril; A: base nitrogenada adenina; T: base nitrogenada timina; AA: genótipo homozigoto mutante AA; AT: heterozigoto AT; TT: homozigoto selvagem TT.

Quanto às variáveis laboratoriais (tabela 2) a insulinemia esteve elevada nos três genótipos, enquanto a glicemia em jejum apresentou-se elevada apenas no genótipo TT. Observou-se, no

genótipo TT, glicemia muito elevada (304 mg/dL) em apenas uma voluntária, o que não ocorreu nos demais genótipos. As demais variáveis apresentaram-se adequadas nos três genótipos.

Todos os genótipos avaliados apresentaram RI e redução de função das células beta pancreáticas, de acordo com os índices HOMA-IR e HOMA-BETA, respectivamente.

Tabela 2: Comparação das variáveis laboratoriais inter genótipos (média ± DP (IC 95%))

	TT (n=13)	AA (n=9)	AT (n=16)	p-valor
Colesterol total (mg/dL)	168,85 ± 29,99 (150,73 – 186,97)	184,00 ± 45,03 (149,38 – 218,62)	176,06 ± 36,14 (156,80 – 195,32)	0,918
LDL-c (mg/dL)	103,46 ± 25,68 (87,94 – 118,98)	115,67 ± 36,90 (87,30 – 144,03)	113,19 ± 31,21 (96,56 – 129,82)	0,923
HDL-c (mg/dL)	45,00 ± 10,97 (38,37 – 51,63)	41,78 ± 5,29 (37,71 – 45,84)	45,00 ± 9,30 (40,04 – 49,96)	0,616
VLDL-c (mg/dL)	20,38 ± 6,23 (16,62 – 24,15)	26,56 ± 15,31 (14,78 – 38,33)	17,88 ± 8,59 (13,30 – 22,45)	0,322
TG (mg/dL)	102,38 ± 30,79 (83,78 – 120,99)	132,89 ± 76,83 (73,84 – 191,94)	89,19 ± 42,87 (66,34 – 112,03)	0,322
Glicose (mg/dL)	114,85 ± 57,73 (79,96 – 149,73)	100,00 ± 21,11 (83,77 – 116,23)	98,44 ± 16,98 (89,39 – 107,48)	0,554
Insulina (mcU/mL)	22,72 ± 15,89 (13,11 – 32,32)	25,03 ± 11,12 (16,48 – 33,58)	23,76 ± 11,32 (17,73 – 29,80)	0,544
HOMA-IR	6,37 ± 4,86 (3,43 – 9,31)	6,12 ± 2,57 (4,14 – 8,09)	5,90 ± 3,31 (4,13 – 7,67)	0,735
HOMA-Beta	73,90 ± 51,14 (43,00 – 104,80)	89,81 ± 46,86 (53,79 – 125,83)	83,68 ± 38,79 (63,01 – 104,35)	0,358

Legenda: LDL: *low density lipoprotein*; HDL: *high density lipoprotein*; VLDL: *very low density lipoprotein*; TG: triglicerídeos; HOMA-IR: homeostasis model assessment – *insulin resistance*; A: base nitrogenada adenina; T: base nitrogenada timina; AA: genótipo homozigoto mutante AA; AT: heterozigoto AT; TT: homozigoto selvagem TT.

Todos os genótipos foram classificados com CAP moderada e como sedentários. Não houve diferença entre genótipos quanto à presença de CAP e à prática de atividade física (tabela 3).

Tabela 3: Comparação das variáveis CAP e atividade física inter genótipos (média ± DP (IC 95%))

	TT (n=13)	AT (n=16)	AA (n=9)	p-valor
CAP	18,77 ± 7,69 (14,12 – 23,42)	17,88 ± 9,89 (12,60 – 23,15)	21,22 ± 10,15 (13,42 – 29,02)	0,821
AF	1,92 ± 0,64 (1,54 – 2,31)	1,88 ± 0,50 (1,61 – 2,14)	1,56 ± 0,53 (1,15 – 1,96)	0,282

Legenda: CAP: Compulsão alimentar periódica; AF: Atividade física; IPAQ: *International physical activity questionnaire*; A: base nitrogenada adenina; T: base nitrogenada timina; AA: genótipo homozigoto mutante AA; AT: heterozigoto AT; TT: homozigoto selvagem TT.

De acordo com os registros dietéticos avaliados (tabela 4), a ingestão dietética apresentou-se hipoglicídica e hiperlipídica (*National Institutes of Health*, 1998) em todos os genótipos. A ingestão calórica por kg de peso corporal foi classificada como hipocalórica para os três genótipos. Quanto ao percentual protéico do VET, a ingestão deste macronutriente foi classificada como normoprotéica, porém, ao se analisar a quantidade média diária ingerida de proteínas em gramas, tal consumo apresentou-se hipoprotéico. Não houve diferença entre os genótipos para as variáveis apresentadas na tabela 4.

Tabela 4: Comparação das variáveis de consumo energético, percentual de carboidratos, proteínas e lipídios do valor energético total, consumo energético por kg de peso corporal total e gramas de proteínas ingeridas por kg de peso corporal total, inter genótipos (média ± DP (IC 95%))

	TT (n=13)	AT (n=16)	AA (n=9)	p-valor
Calorias (kcal)	2419,12 ± 999,51 (1784,07 – 3054,18)	2480,64 ± 524,43 (2163,73 – 2797,55)	2522,36 ± 1152,17 (1559,12 – 3485,60)	0,450
Kcal/kg PCT	19,93 ± 7,14 (16,62 – 24,37)	20,18 ± 4,56 (17,82 – 22,50)	19,62 ± 8,04 (14,09 – 25,03)	0,769
CHO (% VET)	50,71 ± 7,49 (45,95 – 55,47)	47,38 ± 8,88 (42,01 – 52,74)	49,66 ± 4,98 (45,50 – 53,83)	0,875
PTN (% VET)	16,77 ± 3,87 (14,31 – 19,23)	18,56 ± 4,32 (15,95 – 21,17)	18,73 ± 4,81 (14,71 – 22,75)	0,727
GPTN/kg PCT	0,79 ± 0,18 (0,69 – 0,89)	0,90 ± 0,20 (0,81 – 1,03)	0,89 ± 0,47 (0,62 – 1,25)	0,259
LIP (% VET)	32,52 ± 5,54 (29,00 – 36,04)	34,04 ± 7,56 (29,47 – 38,61)	31,60 ± 7,15 (25,62 – 37,59)	0,850

Legenda: kcal: quilocalorias; kg: quilogramas; PCT: peso corporal total; CHO: carboidrato, PTN: proteína; GPTN: gramas de proteínas; LIP: lipídios; VET: valor energético total; A: base nitrogenada adenina; T: base nitrogenada timina; AA: genótipo homozigoto mutante AA; AT: heterozigoto AT; TT: homozigoto selvagem TT.

Considerando o comportamento das sensações relacionadas com a ingestão alimentar, observou-se que o genótipo TT apresentou maiores sensações de fome e desejo de comer que os demais genótipos, sem diferença entre AA e AT (figuras 3 e 6). Com relação às sensações de satisfação e plenitude gástrica, não houve diferença entre genótipos, porém pode ser observada tendência de menor sensação de satisfação e de plenitude gástrica no genótipo TT (figuras 4 e 5).

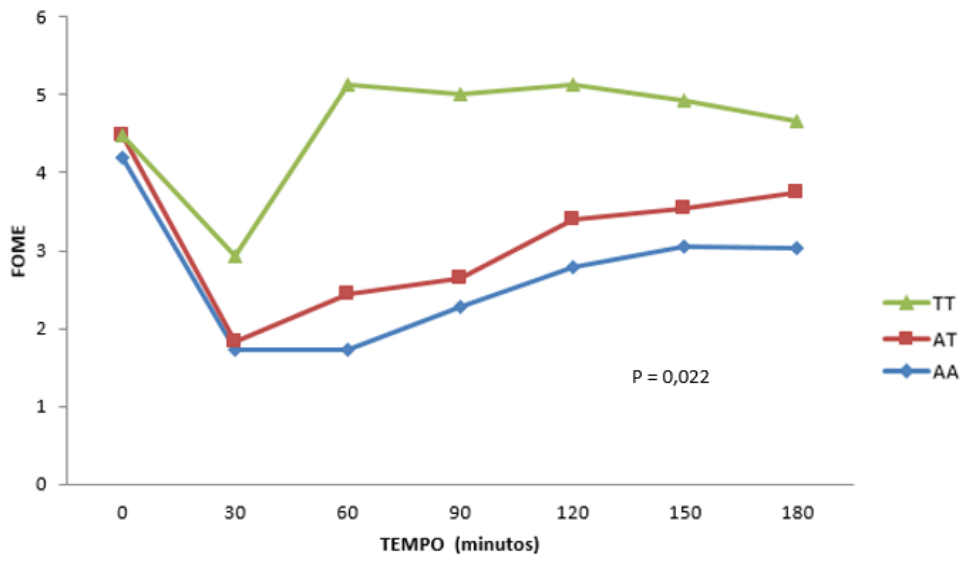

Figura 3: Comparações das sensações de fome inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180.

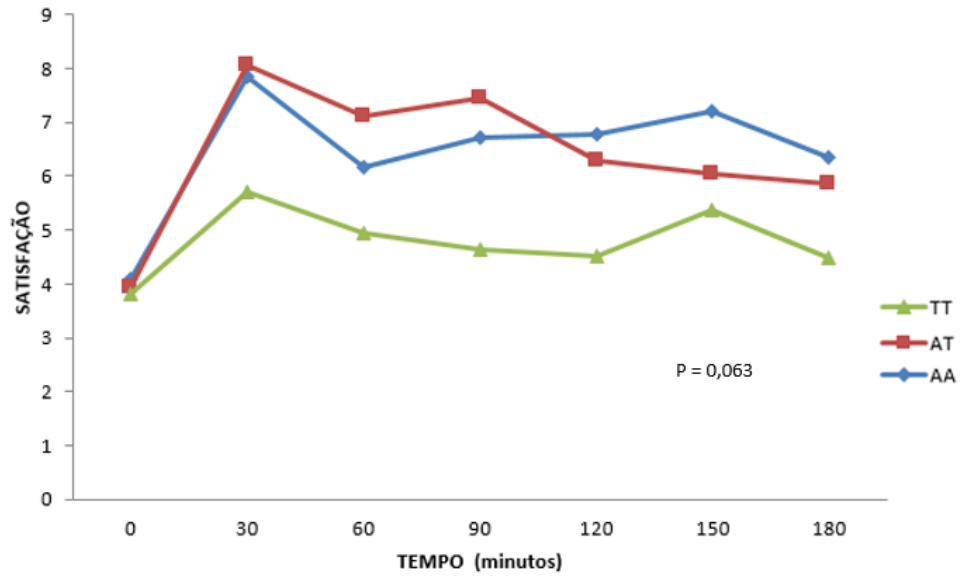

Figura 4: Comparações das sensações de satisfação inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180.

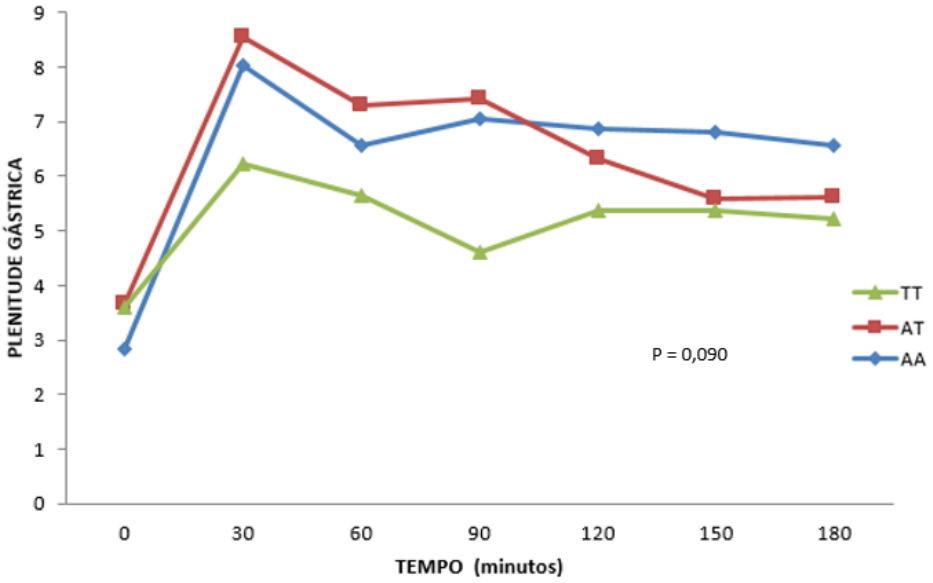

Figura 5: Comparações das sensações de plenitude gástrica inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180.

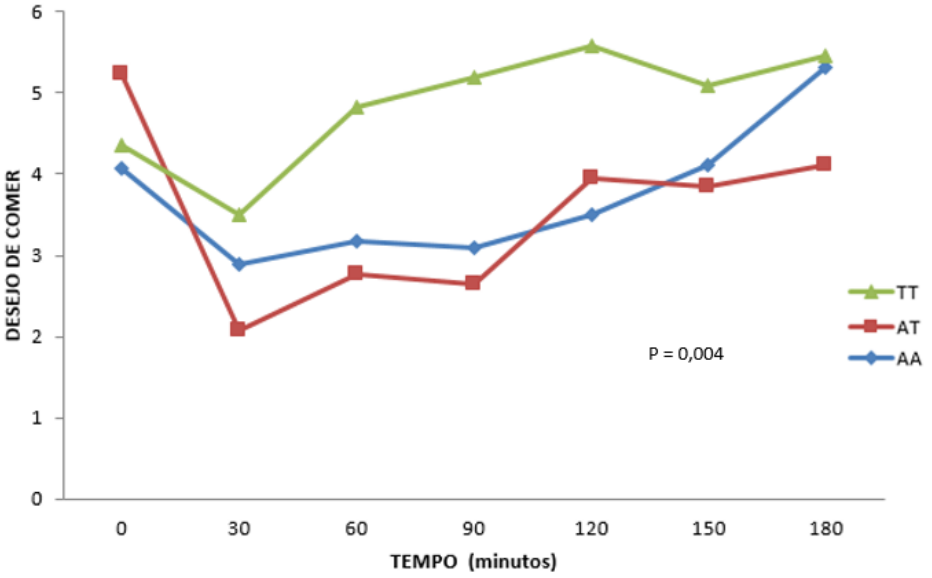

Figura 6: Comparações das sensações de desejo de comer inter genótipos AA, AT e TT nos tempos de T0 a T180.

As concentrações pré e pós prandiais de leptina não diferiram entre genótipos, porém houve redução significativa deste hormônio no genótipo homozigoto selvagem TT aos 180 minutos após ingestão da refeição padrão (tabela 5).

Tabela 5: Comparação das concentrações de leptina plasmática (ng/dL) inter e intra genótipos nos tempos T0 e T180 (média ± DP (IC 95%))

	TT (n=13)	AT (n=16)	AA (n=9)	p-valor*
T0	46,64 ± 18,29 (35,58 – 57,69)	38,85 ± 13,73 (31,53 – 46,16)	46,70 ± 20,05 (31,29 – 62,12)	0,40
T180	39,68 ± 16,68 (29,60 – 49,76)	37,52 ± 13,47 (30,34 – 44,70)	46,76 ± 18,30 (32,69 – 60,83)	0,33
P-valor**	0,009	0,41	0,95	

Legenda: T0: tempo zero; T180: tempo 180; A: base nitrogenada adenina; T: base nitrogenada timina; AA: genótipo homozigoto mutante AA; AT: heterozigoto AT; TT: homozigoto selvagem TT. *Comparação entre genótipos, pelo teste de Kruskal-Wallis. **Comparação intra genótipos pelo método Wilcoxon.

7. DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo clínico que investigou parâmetros relacionados com a ingestão alimentar, incluindo avaliação do hormônio leptina e as sensações relacionadas a fome e saciedade em mulheres com obesidade grau III, relacionando estas sensações aos genótipos do SNP rs9939609 do gene *FTO*. O genótipo homozigoto selvagem TT apresentou redução da leptina pós-prandial e maiores sensações de fome e desejo de comer comparado com os demais genótipos.

O polimorfismo foi encontrado em 69,4% das mulheres avaliadas, semelhante ao percentual de algumas populações do *HapMap* e de alguns estudos citados. O polimorfismo está presente em grande parte da população italiana da Toscana, da população europeia e em indivíduos com ascendência africana que vivem nos Estados Unidos da América (*International HapMap Consortium*, 2003). Estudo realizado por Hoed *et al.* (2009) com homens e mulheres eutróficos e com sobrepeso verificaram frequência de 36,9, 47,6 e 15,5% dos genótipos TT, TA e AA, respectivamente, perfazendo um total de 63,1% de frequência genotípica, semelhante ao nosso estudo. No Brasil, Horvath *et al.* (2015), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, encontraram polimorfismo em 78,2% de uma amostra de 160 homens e mulheres com obesidade grau III. Em outro estudo brasileiro, Lourenço *et al.* (2014) verificaram a presença do polimorfismo em 60,6% de 436 crianças avaliadas, ao passo que Ramos et al. (2011) encontraram o alelo A em 56,3% de 135 mulheres pós menopausadas.

Gustavsson *et al.* (2014) estudaram duas populações residentes na Suécia, totalizando 6145 indivíduos com idades entre 25 e 74 anos. Dentre estes indivíduos, eutróficos, com sobrepeso ou obesidade, foi encontrado polimorfismo no SNP rs9939609 do *FTO* em 2334 homens e 1616 mulheres, totalizando frequência genotípica de 64,30% e 64,25%, para o total de homens e de mulheres respectivamente. Neste estudo verificou-se, portanto, que a frequência do polimorfismo é semelhante entre homens e mulheres. Do total de 1025 indivíduos homozigotos mutados, 15,9%, 64,3% e 19,8% eram eutróficos, apresentavam sobrepeso ou obesidade, respectivamente; o genótipo

AT era composto por 23,8%, 59,2% e 17,1%; enquanto os homozigotos selvagens estavam representados por 30,2%, 56,5% e 13,3% de indivíduos apresentando as classificações citadas anteriormente. Conforme observado, é possível afirmar que o genótipo AA está presente em uma proporção maior de indivíduos com sobrepeso e doenças coronarianas e o oposto ocorre no genótipo TT, o que se pode inferir que o polimorfismo nos dois alelos pode ser mais frequente em indivíduos com obesidade.

De acordo com pesquisa realizada por Shabana & Hasnain (2015) com 631 homens e mulheres do Paquistão, comparando eutróficos (controle) com obesos, com e sem polimorfismo do SNP rs9939609 do *FTO*, foram encontradas diferenças entre as frequências do polimorfismo. Os indivíduos com obesidade apresentaram maior frequência do genótipo AA (11,5% dos 346 indivíduos com obesidade) em relação ao TT (5,0% dos 285 indivíduos do grupo controle). O grupo chamado controle apresentou maior frequência do TT (57,9%) quando comparado ao AA (52,9%). Estes dados reafirmam a influência do polimorfismo no IMC.

Estudos apontam relação positiva do alelo de risco A com o IMC elevado. Frayling *et al*. (2007), a partir de estudos de associação genômica ampla (*genome-wide association*), identificaram um variante comum no gene *FTO* que predispõe ao DM, por meio do efeito no IMC. Estes pesquisadores observaram que 16% dos adultos que são homozigotos para o alelo de risco (A) pesavam cerca de 3 kg a mais e tinham probabilidade de apresentar obesidade 1,67 vezes superior, quando comparados com aqueles sem a herança do alelo de risco. Esta associação foi observada a partir dos 7 anos de idade e reflete em aumento da massa de gordura. Em estudo realizado com ratos, Church *et al.* (2010) demonstraram que a expressão elevada do gene *FTO* resultaria em obesidade. Uma superexpressão do *FTO* levaria ao aumento do peso corporal e da massa de gordura, as quais seriam dose-dependentes, sem haver relação com dieta hiperlipídica. No nosso estudo não foram observadas diferenças no peso e na massa gorda entre genótipos, porém destaca-se que a amostra estudada foi reduzida, não sendo o objetivo principal deste estudo avaliar a relação entre as variáveis antropométricas e a presença do polimorfismo do *FTO*.

No presente estudo, não foram observadas diferenças entre os genótipos quanto ao perfil glicêmico das mulheres, diferente do estudo realizado por Shahid *et al.* (2013), onde foram avaliadas 97 mulheres obesas e 45 eutróficas e verificou-se relação do polimorfismo no SNP rs9939609 do gene *FTO* com glicemia e insulina plasmática, ambas em jejum, elevadas. Em outro estudo, com outros SNP do mesmo gene, pesquisadores também verificaram relação positiva dos polimorfismos com RI, em 908 indivíduos com sobrepeso (DO *et al.*, 2008). Porém Shimaoka *et al.* (2010) não encontraram relação do rs9939609 com RI, em estudo que avaliou 1514 indivíduos japoneses adultos, eutróficos ou com sobrepeso. É importante salientar que há diferenças, quando se trata de obesidade severa e frequência do polimorfismo, entre as populações caucasiana e japonesa (SHIMAOKA *et al.*, 2010).

Em um estudo realizado na China, Xi *et al.* (2010) avaliaram a associação do SNPrs9939609 com risco de obesidade em 3503 crianças e adolescentes com e sem obesidade, enquanto Olza *et al.* (2013), na Espanha, pesquisaram se o mesmo SNP do FTO e outros SNP do mesmo gene exerciam influência no risco de obesidade, DCV e inflamação em 534 crianças obesas e eutróficas. Os estudos de Xi *et al.* (2010), Olza *et al.* (2013) e Shahid *et al.* (2016) assim como no presente estudo, não encontraram associações do polimorfismo do gene *FTO* com as variáveis lipêmicas.

Os indivíduos dos três genótipos foram classificados como apresentando compulsão alimentar periódica moderada, de acordo com a ECAP, sem diferença entre eles. Em estudo realizado no Brasil com 160 pacientes obesos grau III, Horvath *et al.* (2015) concluíram que o polimorfismo do *FTO* não está relacionado com compulsão alimentar. Contrariamente, Micali *et al.* (2015), em estudo com adolescentes eutróficos, encontraram relação positiva do polimorfismo do *FTO* com compulsão alimentar.

Andreasen *et al.* (2008), em pesquisa com 17508 dinamarqueses adultos eutróficos, com sobrepeso ou obesidade, concluíram que a prática reduzida de atividade física, pode acentuar o efeito do polimorfismo do SNP rs9939609 do gene *FTO* no acúmulo de gordura corporal. Gustavsson *et al.* (2014) observaram que o polimorfismo no gene *FTO* possui efeito mais atenuado

no IMC de indivíduos fisicamente ativos, levando a crer que a prática de atividade física reduz o efeito do *FTO* no IMC e na obesidade. Por outro lado, o grau de atividade física não diferiu entre os indivíduos com ou sem polimorfismo, donde pode-se inferir que não existe diferença entre genótipos quanto à prática de atividade física, semelhante ao encontrado no presente estudo (GUSTAVSSON *et al.*, 2014). Kilpeläinen *et al.* (2011) também não encontraram associação entre o *FTO* e o grau de atividade física em uma meta-análise que incluiu mais de 200 mil adultos e mais de 19 mil crianças de diferentes regiões geográficas, gêneros, etnia, características antropométricas e formas de avaliação do grau de atividade física.

A ingestão dietética não diferiu entre os genótipos, apresentando-se hipocalórica para os três genótipos. Resultados diferentes foram encontrados por Brunkwall *et al.* (2013) que observaram, em estudo com 22799 indivíduos com sobrepeso, a possibilidade do SNP em questão estar relacionado a preferência e consumo de alimentos com maior densidade calórica. Karra *et al.* (2013) observaram relação do polimorfismo com a regulação de grelina, o que pode explicar o modo como o alelo de risco A pode predispor ao consumo energético elevado e, consequentemente, à obesidade. Salienta-se que nosso estudo não foi desenhado para conduzir este tipo de investigação, visto que as relações observadas por Brunkwall *et al.* (2013) foram obtidas por meio de estudo populacional.

Hoed *et al.* (2009) verificaram resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo, ao observarem associação entre respostas pós prandiais de fome e saciedade com os genótipos AA e AT. Estes autores verificaram redução da resposta pós-prandial à fome no genótipo AA. Porém, a resposta à saciedade também era reduzida neste genótipo, o que levou os autores a concluírem que esta baixa resposta poderia resultar em maior consumo alimentar em indivíduos homozigotos mutantes. Este processo é, provavelmente, mediado por uma interação epistática envolvendo variantes nos genes *DNMT3B* e *LEPR*. A interação com o SNP rs992472 do gene *DNMT3B* sugere que a metilação de DNA, um processo epigenético, está envolvido na regulação da ingestão de alimentos. Portanto, ainda permanece inconclusiva a relação direta do alelo A com o aumento do consumo alimentar, considerando as sensações de fome e saciedade.

Outros estudos apresentaram resultados de distintas variáveis associadas com a ingestão alimentar, defendendo a hipótese de que o alelo A está relacionado com aumento desta. Qi *et al.* (2008) sugerem que o gene *FTO* deve compor a via que permeia a neurorregulação do metabolismo energético no tecido adiposo e, bloqueando o sinal da leptina, pode inibir mudanças no tecido adiposo que induzem a expressão do *FTO*. No estudo citado foram avaliados 2287 indivíduos eutróficos, com sobrepeso ou obesidade, com faixa etária mais ampla do que a do presente estudo. Outro estudo, realizado por Wardle *et al.* (2008) com 3337 crianças no Reino Unido, concluiu que o alelo A pode influenciar o apetite, reduzindo a saciedade. Existem poucos estudos acerca do tema e as populações estudadas são distintas, o que pode explicar a divergência de resultados encontrados.

Indivíduos com o genótipo TT apresentaram redução da leptinemia pós-prandial, após a ingestão da refeição teste padrão, o que confirma os resultados encontrados pela EAV, que também indicaram aumento da fome e do desejo de comer, comparado com os demais genótipos. No entanto, não foram observadas diferenças na ingestão alimentar habitual das voluntárias, o que pode ter sido influenciado pelo perfil de macronutrientes ingeridos pelas mesmas, pois a refeição teste utilizada para avaliação da leptinemia e das sensações relacionadas com a ingestão alimentar foi normolipídica e normoglicídica, enquanto que a ingestão dietética habitual das mulheres era hipoglicídica e hiperlipídica.

Estudos indicam que o conteúdo de lipídios da dieta pode influenciar o consumo dietético, o comportamento alimentar e a leptinemia, visto que dietas hiperlipídicas aumentam a secreção de leptina, porém também aumentam a resistência à ação do hormônio. No entanto, tais estudos não avaliaram os diferentes genótipos do *FTO* e o efeito de dietas hiperlipídicas na leptinemia e nas sensações de fome/saciedade (SCHWARTZ *et al.*, 2008; MALJAARS *et al.*, 2009; STUBBS & HARBRON, 1996; ST-ONGE *et al.*, 2003; SÁNCHEZ *et al.*, 2007; MEDINA *et al.*, 2000).

Shahid *et al.* (2013), mencionaram que a associação do polimorfismo do SNP rs9939609 do gene *FTO* com leptinemia elevada pode intervir no metabolismo de mulheres adultas, induzindo resistência à leptina e afetar a regulação de ingestão alimentar e gasto energético. De Luis *et al.*

(2012b) com 129 indivíduos com obesidade grau III encontrou associação positiva do SNP rs9939609 com maior peso corporal, massa gorda e concentrações de leptina em pacientes com obesidade grau III, o que difere de nosso estudo. Porém, o estudo apresentado foi conduzido com homens e mulheres com obesidade grau III e criou apenas dois grupos genotípicos, com e sem polimorfismo, não diferenciando os genótipos AA e AT. Por outro lado, Do *et al.* (2008) não encontraram associação entre o polimorfismo e leptinemia elevada ao estudarem outros SNP do mesmo gene em 908 indivíduos com sobrepeso.

Hoed *et al.* (2009) acreditam que a resistência à leptina poderia afetar de forma funcional a expressão do *FTO* naqueles indivíduos com os genótipos AA e AT. No presente estudo, a leptinemia em jejum foi semelhante entre os genótipos, porém não foi possível avaliar a expressão do gene que codifica a leptina, não sendo possível discutir sobre aumento ou redução da expressão do referido gene. Por outro lado, não foram encontrados estudos que avaliaram a leptinemia pós-prandial.

Não existem estudos na literatura científica avaliando as sensações relacionadas com a ingestão alimentar e a secreção de leptina pós prandial nos diferentes genótipos do gene *FTO*, em obesos grau III, o que torna estes resultados inéditos. Por outro lado, sabe-se que a leptina é um hormônio anorexígeno (SCHWARTZ *et al.*, 1999), contrapondo os efeitos da grelina. Diante disto, o presente estudo nos faz sugerir que outros fatores hormonais ou não possam estar relacionados com o aumento da ingestão alimentar de indivíduos com o alelo A relatado em alguns estudos, e não somente a grelina sérica, como mencionado anteriormente.

Dentre as limitações do presente estudo, destacam-se a ausência de dosagem da grelina sérica, que poderiam complementar os dados avaliados, o tamanho da amostra que, ao se apresentar em número reduzido, permite considerar os resultados encontrados apenas para a amostra em questão, e até o presente momento não foram encontrados estudos semelhantes ao nosso, relacionando o polimorfismo do SNP rs9939609 do gene *FTO* em mulheres com obesidade grau 3

com variáveis hormonais e escalas subjetivas de fome/saciedade pós-prandiais, o que dificulta comparações com os resultados obtidos neste estudo.

8. CONCLUSÃO

Em mulheres com obesidade grau III, o polimorfismo no SNP rs9939609 do gene *FTO* resultou em menor resposta à fome e desejo de comer, com possível relação com a manutenção da leptinemia pós prandial nestes indivíduos. Por outro lado, o homozigoto selvagem TT apresentou aumento da fome e desejo de comer, comparado aos genótipos AA e AT, o que pode estar associado com a reduzida leptinemia pós prandial. A saciedade não diferiu entre genótipos.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Acredita-se que outras avaliações, hormonais e genotípicas, em diferentes populações, com desenhos experimentais que incluam avaliações de efeito agudo e crônico, possam contribuir com o esclarecimento do real efeito do polimorfismo do gene *FTO* na gênese e manutenção da obesidade, já que, até o momento, tem sido enfatizada sua etiologia multifatorial e poligênica, o que a torna uma doença de difícil controle.

Sugere-se que sejam conduzidos novos estudos, avaliando o efeito de diferentes refeições teste, com diferentes conteúdos de lipídios e glicídios e seus efeitos nas variáveis pós prandiais relacionadas a ingestão e comportamento alimentar. Seria importante também a condução de estudos de intervenção dietética, com diferentes perfis de macronutrientes e seus efeitos na ingestão alimentar em longo prazo, em indivíduos com diferentes graus de obesidade, considerando o genótipo do *FTO*. Sugere-se, ainda, estudos com indivíduos do sexo masculino, tendo em vista que a obesidade no mundo tem aumentado mais nos homens que mulheres e que os dois gêneros possuem algumas peculiaridades fisiológicas distintas. Também são importantes estudos que avaliem a frequência do polimorfismo no *FTO*, o consumo alimentar e a secreção dos diversos hormônios associados com a regulação deste consumo, para tentar elucidar se a relação do gene com a obesidade está realmente associada com o controle da ingestão alimentar e se esta é influenciada pelos hormônios orexígenos e anorexígenos que apresentam suas secreções e expressão alterados na obesidade. Adicionalmente, poderão ser realizados estudos futuros dosando-se a leptina em outros momentos pós prandiais, objetivando o conhecimento do comportamento desta secreção após as refeições, e também a comparação da resposta pós prandial na obesidade e na eutrofia.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABESO. 2009/2010. Associação Brasileira para Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica – ABESO. Diretrizes Brasileiras de Obesidade. ABESO 2009-2010. Disponível em: http://www.abeso.org.br/pdf/diretrizes_brasileiras_obesidade_2009_2010_1.pdf.
- Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. Trends Endocrinol Metab 2000; 11: 327-32.
- Ahmad T, Chasman DI, Mora S et al. The fat-mass and obesity-associated (*FTO*) gene, physical activity, and risk of incident cardiovascular events in white women. Am Heart J 2010; 160:1163–1169.
- Al-Mahmood AK, Ismail AA, Rashid FA et al. Insulin sensitivity and secretory status of a healthy malay population. Malays J Med Sci 2006; Vol. 13, No. 2, July 2006 (37-44).
- American Psychiatric Association (APA). DSM-5 Development. DSM-5 Implementation and Support; 2015.
- Andreasen CH, Stender-Petersen KL, Mogensen MS et al. Low physical activity accenuates the effect of the *FTO* rs9939609 polymorphism on body fat accumulation. Diabetes 2008; 57:95-101.
- Arrizabalaga M, Larrarte E, Margareto J et al. Preliminary findings on the influence of *FTO* rs9939609 and MCR rs17782313 polymorphisms on resting energy expenditure, leptin and thyrotropin levels in obese non-morbid premenopausal women. J Physiol Biochem 2014; Mar;70(1):255-62.
- Baer DJ, Stote KS, Paul DR et al. Whey Protein but Not Soy Protein Supplementation Alters Body Weight and Composition in Free-Living Overweight and Obese Adults. J Nutr 2011; 141: 1489–1494.

- Bhaskaran K, Douglas I, Forbes H et al. Body-mass index and risk of 22 specific cancers: a population-based cohort study of 5.24 million UK adults. Lancet 2014; Aug 30;384(9945):755-65.
- Blundell JE, Halford JC. Regulation of nutrient supply: the brain and appetite control. Proc Nutr Soc 1994; 53: 407–18.
- Blundell JE. Appetite disturbance and the problems of overweight. Drugs 1990; 39 (Suppl 3): 1-19.
- Boutin P, Froguel P. Genetics of human obesity. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2001; 15:391-404.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. VIGITEL. Brasil 2014: Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- Bruijnzeel AW, Qi X, Corrie LW. Anorexic effects of intra-VTA leptin are similar in low-fat and high-fat-fed rats but attenuated in a subgroup of high-fat-fed obese rats. Pharmacol Biochem Behav 2013; Jan;103(3):573-581.
- Brunkwall L, Ericson U, Hellstrand S et al. Genetic variation in the fat mass and obesity-associated gene (*FTO*) in association with food preferences in healthy adults. Food and Nutrition Research 2013; 57:20028.
- Bulik CM, Sullivan PF, Kendler KS. Genetic and environmental contributions to obesity and binge eating. Int J Eat Disord 2003; Apr;33(3):293-8.
- Burton-Freeman B. Dietary fiber and energy regulation. J Nutr 2000; 30 (2): 272S- 5S.
- Chang YC, Liu PH, Lee WJ et al. Common variant in the fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene confers risk of obesity and modulates BMI in the Chinese population. Diabetes 2008; Aug; 57(8): 2245-2252.
- Church C, Moir L, McMurray F et al. Overexpression of *FTO* leads to increased food intake and results in obesity. Nat Genet 2010; Dec;42(12): 1086-1092.

- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. N Engl J Med 1996;334:292.
- Coutinho, Walmir. Consenso latino-americano de obesidade. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia 2015.
- Cummings DE, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. J Clin Invest 2007; 117 (1): 13-23.
- Dardeno TA. Leptin in human physiology and therapeutics. Front Neuroendocrinol 2010; Jul;31(3):377-93.
- de Luis DA, Aller R, Conde R et al. Relation of the rs9939609 gene variant in *FTO* with cardiovascular risk factor and serum adipokine levels in morbid obese patients. Nutr Hosp 2012; Jul-Ago;27(4):1184-9b.
- de Luis DA, Aller R, Izaola O et al. Evaluation of weigth loss and adipocytokines levels after two hypocaloric diets with different macronutrient distribution in obese subjects with rs9939609 gene variant. Diabetes Metab Res Rev 2012; Nov;28(8):663-8a.
- Decreto Legislativo nº 273 de 2014.
- Do R, Bailey SD, Desbiens K et al. Genetic variants of *FTO* influence adiposity, insulin sensitivity, leptina levels, and resting metabolic rate in the Quebec Family Study. Diabetes 2008; Apr;57(4):1147-50.
- Dougkas A, Yagoob P, Givens DI et al. The impact of obesity-related SNP on appetite and energy intake. Br J Nut 2013; Set 28;110(6):1151-6.
- Fang H, Li Y, Du S et al. Variant rs9939609 in the *FTO* gene is associated with body mass index among Chinese children. BMC Med Genet 2010; 22;11:136.
- Fenech M, El-Sohemy A, Cahill L et al. Nutrigenetics and nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice. J Nutrigenet Nutrigenomics 2011; Jul; 4(2): 69–89.

- Flint A, Raben A, Blundell JE et al. Reproducibility, power and validity of visual analogue scales in assessment of appetite sensations in single test meal studies. Int J Obes 2000; 24: 38-48.
- Fonseca-Alaniz MH, Takada J, Alonso-Vale MIC et al. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. J Pediatr 2007; 83: S192-203.
- Foster GD, Wyatt HR, Hill JO et al. Weight and metabolic outcomes after 2 years on a low-carbohydrate versus low-fat diet: a randomized trial. Ann Intern Med 2010; Ago 3;153(3):147-157.
- Frayling T, Timpson NJ, Weedon MN et al. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. Science 2007; May 11; 316(5826):889-894.
- Freitas S, Lopes CS, Coutinho W et al. Tradução e adaptação para o português de Escala de Compulsão Alimentar Periódica. Ver Bras Psiquiatr 2001;23(4):215-20.
- Friedewald W, Levy R, Fredrickson D. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; v. 18, n. 6, p. 499.
- Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature 1998; 395:763–770.
- Gargari BP, Dehghan P, Aliasgharzadeh A et al. Effects of High Performance Inulin Supplementation on Glycemic Control and Antioxidant Status in Women with Type 2 Diabetes. Diabetes Metab J 2013; 37:140-148.
- Geliebter A, Gluck ME, Hashim SA. Plasma ghrelin concentrations are lower in binge-eating disorder. J Nutr 2005; May;135(5):1326-30.
- Gormally J, Black S, Daston S et al. The assessment of binge eating severity among obese persons. Addict Behav 1982;7:47-55.

- Gulati P, Cheung MK, Antrobus R et al. Role of the obesity-related *FTO* gene in the cellular sensing of aminoacids. Proc Natl Acad Sci USA 2013; Fev 12;110(7):2557-62.
- Gustavsson J, Mehlig K, Leander K et al. *FTO* Genotype, Physical Activity, and Coronary Heart Disease Risk in Swedish Men and Women. Circ Cardiovasc Genet 2014;7:171-177.
- Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M et al. Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. Science 1995; Jul 28;269(5223):543-6.
- Hausman DB, DiGirolamo M, Bartness TJ et al. The biology of white adipocyte proliferation. Obes Rev 2001; 2:239–254.
- Hoed M, Westerterp-Plantenga MS, Bouwman FG et al. Postprandial responses in hunger and satiety are associated with the rs9939609 single nucleotide polymorphism in *FTO*. Am J Clin Nutr 2009; Nov vol. 90 no. 5 1426-1432.
- Hooper L, Abdelhamid A, Moore HJ et al. Effect of reducing total fat intake on body weight: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials and cohort studies. BMJ 2012; 345.
- Horvath JDC, Castro MLD, Kops NL. *FTO* polymorphism (RS9939609) and BED in patients with morbid obesity for evaluation towards bariatric surgery. Diabetol Metab Syndr 2015; 7(Suppl 1):A146.
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. Nature 2006; 444:860–867.
- Hotta K, Nakata Y, Matsuo T et al. Variations in the *FTO* gene are associated with severe obesity in the Japanese. J Hum Genet 2008; 53:546–53.
- Hudson JI, Hiripi E, Pope HG et al. The prevalence and correlates of eating disorders in the National Comorbidity Survey Replication. Biol Psychiatry 2007;61:348–358.
- Hudson JI, Lalonde JK, Berry JM et al. Binge-eating disorder as a distinct familial phenotype in obese individuals. Arch Gen Psychiatry 2006; Mar;63(3):313-9.

- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Brasil. Rio de Janeiro: IBGE 2010. 130p.
- International HapMap Consortium. The International HapMap Project. Nature 2003; Dec 18;426(6968):789-96.
- Jernas M, Palming J, Sjoholm K et al. Separation of human adipocytes by size: Hypertrophic fat cells display distinct gene expression. Faseb J 2006; 20:1540–1542.
- Jiang S, Song K, Feng S et al. Association between serum leptin levels and peritoneal dialysis: A meta-analysis. Exp Ther Med 2015; Jul; 10(1): 300–308.
- Karra E, O'daly OG, Choudhury AI et al. A link between *FTO*, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. J. Clin. Invest 2013; 123, 3539–3551.
- Kentish SJ, Wittert GA, Blackshaw LA et al. A chronic high fat diet alters the homologous and heterologous control of appetite regulating peptide receptor expression. Peptides 2013; Ago;46:150-8.
- Kilpeläinen TO, Qi L, Brage S et al. Physical Activity Attenuates the Influence of *FTO* Variants on Obesity Risk: A Meta-Analysis of 218,166 Adults and 19,268 Children. PLoS Med 2011; 8(11): e1001116.
- Kouidhi S, Jarboui S, Clerget Froidevaux MS et al. Relationship between subcutaneous adipose tissue expression of leptin and obesity in Tunisian patients. Tunis Med 2010; 88:569–572.
- Labayen I, Ruiz JR, Ortega FB et al. Association between the *FTO* rs9939609 polymorphism and leptin in European adolescents: a possible link with energy balance control. The HELENA study. Int J Obes 2011; 35(1):66–71.
- Lappalainen T, Kolehmainen M, Schwab US et al. Finnish diabetes prevention study group: association of the *FTO* gene variant (rs9939609) with cardiovascular disease in men with

abnormal glucose metabolism--the Finnish diabetes prevention study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2011; 21:691–698.

- Lee WJ, Yu PJ, Wang W et al. Laparoscopic Roux-en-Y Versus Mini-Gastric Bypass for the Treatment of Morbid Obesity. Ann Surg 2005; Jul;242(1): 20-28.
- Li H, Wu Y, Loss RJF et al. Variants in the fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene are not associated with obesity in a Chinese han population. Diabetes 2008; Jan;57(1):264-8.
- Liu C, Mou S, Pan C. The *FTO* gene rs9939609 polymorphism predicts risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. PLoS One 2013; 8(8): e71901.
- LOHMAN, T.G.; ROCHE, A.F.; MARTORELL, R. Anthropometric Standardization Reference Manual. Champaign, IL, USA: Human Kinetics, 1988.
- Lourenço BH, Qi L, Willett WC et al. *FTO* Genotype, Vitamin D Status, and Weight Gain During Childhood. Diabetes 2014; Feb; 63(2): 808–814.
- Maljaars J, Romeyn EA, Haddeman E et al. Effect of fat saturation on satiety, hormone release, and food intake. Am J Clin Nutr 2009;89:1019–24.
- Mangge H, Renner W, Almer G et al. Rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene and trunk obesity in adolescents. J Obes 2011; 2011:186368.
- Mangweth B, Hudson JI, Pope HG et al. Family study of the aggregation of eating disorders and mood disorders. Psychol Med 2003; Oct;33(7):1319-23.
- Marcus MD, Wing RR, Lamparski DM. Binge eating and dietary restraint in obese patients. Addict Behav 1985; v.10, n.2, p.163-8.
- Marroquí L, Gonzalez A, Ñeco P et al. Role of leptin in the pancreatic β-cell: Effects and signaling pathways. J Mol Endocrinol 2012; 49:R9–R17
- Matsudo S, Araújo T, Matsudo V et al. Questionário Internacional de Atividade Física (IPAQ): estudo de validade e reprodutibilidade no Brasil. Rev Bras Ativ Fís Saúde 2001; 6(2):5-12.

- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. Diabetologia 1985; 28:412–419.
- Medina EA, Horn WF, Keim NL et al. Conjugated linoleic acid supplementation in humans: effects on circulating leptin concentrations and appetite. Lipids 2000; Jul;35(7):783-8.
- Micali N, Field AE, Treasure JL et al. Are obesity risk genes associated with binge eating in adolescence? Obesity (Silver Spring) 2015; Aug; 23(8): 1729–1736.
- National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute. Obesity education initiative. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report. Obes Res 1998;6(Suppl 2):51S-209S.
- National Institutes of Health. Obesity expert panel. Managing Overweight and Obesity in Adults: Systematic Evidence Review from the Obesity Expert Panel. 2013.
- Olza J, Ruperez AI, Gil-Campos M et al. Influence of *FTO* variants on obesity, inflammation and cardiovascular disease risk biomarkers in Spanish children: a case-control multicenter study. BMV Medical genetics 2013; 14:123.
- Paquot N, De Flines J, Rorive M. Obesity: a model of complex interactions between genetics and environment. Rev Med Liege 2012; 67:332–336.
- Paz-Filho G, Mastronardi C, Franco CB et al. Leptin: Molecular mechanisms, systemic pro-inflammatory effects, and clinical implications. Arq Bras Endocrinol Metabol 2012; 56:597–607.
- Peters T, Ausmeier K, Rüther U. Cloning of Fatso (Fto), a novel gene deleted by the Fused toes (Ft) mouse mutation. Mamm Genome 1999; 10 (10): 983–6.
- Qi L, Kang K, Zhang C et al. Fat Mass and Obesity-Associated (*FTO*) Gene Variant Is Associated With Obesity. Diabetes 2008; 57:3145–3151.

- Ramos RB, Casanova GK, Maturana MA et al. Variations in the fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene are related to glucose levels and higher lipid accumulation product in postmenopausal women from southern Brazil. Fertil Steril 2011; Oct;96(4):974-9.
- Sánchez J, Priego T, Oliver P et al. The intake of a hyperlipidic diet stimulates the gastric leptin signalling pathway in female rats. Genes Nutr 2007; 2:135.
- Schwartz GJ, Fu J, Astarita G et al. The lipid messenger OEA links dietary fat intake to satiety. Cell Metab 2008; October ; 8(4): 281–288.
- Schwartz MW, Baskin DG, Kaiyala KJ et al. Model for the regulation of energy balance and adiposity by the central nervous system. Am J Clin Nutr 1999; 69: 584-596.
- Scuteri A. Genome-wide association scan shows genetic variants in the *FTO* gene are associated with obesity-related traits. PLoS Genet 2007; 3:e115.
- Shabana, Hasnain S. Effect of the Common Fat Mass and Obesity Associated Gene Variants on Obesity in Pakistani Population: A Case-Control Study. BioMed Res Int 2015; vol. 2015, Article ID 852920.
- Shahid A, Rana S, Saeed S et al. Common variant of *FTO* gene, rs9939609, and obesity in Pakistani females. BioMed Res Int 2013; 2013:324093.
- Shahid SU, Shabana, Rehman A et al. Role of a common variant of Fas Mass and Obesity associated (*FTO*) gene in obesity and coronary artery disease in subjects from Punjab, Pakistan: a case control study. Lipids Health Dis 2016; 15-29.
- Shimaoka I, Kamide K, Ohishi M et al. Association of gene polymorphism of the fat-mass and obesity-associated gene with insulin resistance in Japanese. Hypertension Res 2010; 33, 214–218.
- Skurk T, Alberti-Huber C, Herder C et al. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92:1023–1033.
- Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes.

- Sociedade Brasileira de Hipertensão et al. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arq Bras Cardiol 2005; vol.84, suppl.1, pp.3-28.
- Spalding KL, Arner E, Westermark PO et al. Dynamics of fat cell turnover in humans. Nature 2008; 453:783–787.
- Stern SE, Williams K, Ferrannini E et al. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. Diabetes 2005; Feb;54(2):333-9.
- St-Onge MP, Ross R, Parsons WD et al. Medium-Chain Triglycerides Increase Energy Expenditure and Decrease Adiposity in Overweight Men. Obes Res 2003; Mar Vol. 11 No. 3.
- Strubbe JH, Woods SC. The timing of meals. Psychol Rev 2004; 111:128-41.
- Stubbs RJ, Harbron CG. Covert manipulation of the ratio of medium- to long-chain triglycerides in isoenergetically dense diets: effect on food intake in ad libitum feeding men. Int J Obes Relat Metab Disord 1996; May;20(5):435-44.
- The 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing. Nature 2010; 467:1061.
- Wardle J, Carnell S, Haworth CMA et al. Obesity Associated Genetic Variation in *FTO* Is Associated with Diminished Satiety. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93: 3640–3643.
- Willett, W. Nutritional Epidemiology. EUA: Oxford University Press, 1998. Vol 30.
- World Health Organization. Obesity – Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Genebra, 1998.
- World Health Organization. Obesity and Overweight. Genebra, 2015. Fact sheet 311.
- World Health Organization. Physical status, the use and interpretation of anthropometry: report of a WHO expert committee. World Health Organization, 1995.
- World Health Organization.. Waist Circumference and Waist-Hip ratio: report of a WHO Expert Consultation. 2008. World Health Organization: Geneva, p. 8-11, 2008.

- Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arq Bras Cardiol 2013; 101(4Supl.1): 1-22.
- Xi B, Shen Y, Zhang M et al. The common rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene is associated with obesity risk in children and adolescents of Beijing, China. BMC Med Genet 2010; Jul 5;11:107.
- Xu H, Barnes GT, Yang Q et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. J Clin Investig 2003; 112:1821–1830.
- Xu J, Zhao YH, Chen YP et al. Maternal circulating concentrations of tumor necrosis factor-alpha, leptin, and adiponectin in gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. The Scientific World Journal 2014; 2014:926932.
- Yanovski SZ, Nelson JE, Dubbert BK et al. Association of binge eating disorder and psychiatric comorbidity in obese subjects. Am J Psychiatry 1993; Oct;150(10):1472-9.
- Zhou X, Chai Y, Chen K et al. A meta-analysis of reference values of leptin concentration in healthy postmenopausal women. PLoS One 2013; 8(8): e72734.

11. ANEXOS

Anexo 1: Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho

HOSPITAL UNIVERSITÁRIO
CLEMENTINO FRAGA FILHO
((HUCFF/ UFRJ))

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Associação entre a alteração do gene FTO com o hormonio grelina e o consumo alimentar de obesos

Pesquisador: Fernanda Cristina Carvalho Mattos Magno

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 31573114.1.0000.5257

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 845.537

Data da Relatoria: 25/09/2014

Apresentação do Projeto:

Protocolo 116-14 do grupo III. Respostas recebidas em 24.7.2014.

Objetivo da Pesquisa:

ver parecer consubstanciado número 762617, emitido em 24/08/2014

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

ver parecer consubstanciado número 762617, emitido em 24/08/2014

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

ver parecer consubstanciado número 762617, emitido em 24/08/2014

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

ver parecer consubstanciado número 762617, emitido em 24/08/2014

Recomendações:

Nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sobre o TCLE:

1- Termos técnicos e de difícil compreensão, como por exemplo <-polimorfismo, gene FTO,

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-48
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

grelina plasmática, rs9939609, >> devem ser evitados e substituídos por termos acessíveis para o público alvo da
pesquisa. Solicita-se adequação;
Primeira resposta: Os termos foram revistos e adequados em linguagem mais popular. Afirmações que pudessem confundir o voluntário do estudo foram excluídas ou modificadas. Informações referentes à divulgação dos resultados e as garantias de liberdade de participação no referido estudo foram adicionadas ao TCLE. Os telefones do CEP foram corrigidos. O TCLE encontra-se anexado no site.
Análise: Pendência não atendida. Exemplo de termos de difícil compreensão: <<gerar subsídios para modificações nas prescrições dietéticas objetivando redução da secreção e, ou, sensibilidade ao hormônio para controle da ingestão energética.>>
Primeira análise: Pendência não atendida.

Segunda resposta: Os termos foram revistos e adequados em linguagem mais popular. O TCLE atualizado e com as devidas correções encontra-se anexado no site.

Segunda análise: Pendência atendida.

3- Não constam no TCLE as justificativas da pesquisa; declaração que resultados serão tornados públicos; além das garantias de liberdade de se recusar a participar do estudo, de assistência, ressarcimento, indenização e de confidencialidade. Solicita-se adequação;

Resposta: Os termos foram revistos e adequados em linguagem mais popular. Afirmações que pudessem confundir o voluntário do estudo foram excluídas ou modificadas. Informações referentes à divulgação dos resultados e as garantias de liberdade de participação no referido estudo foram adicionadas ao TCLE. Os telefones do CEP foram corrigidos. O TCLE encontra-se anexado no site. Resposta: Os termos foram revistos e adequados em linguagem mais popular. Afirmações que pudessem confundir o voluntário do estudo foram excluídas ou modificadas. Informações referentes à divulgação dos
resultados e as garantias de liberdade de participação no referido estudo foram adicionadas ao TCLE. Os telefones do CEP foram corrigidos. O TCLE encontra-se anexado no site.

Análise: Garantias de direito à ressarcimento e indenização e de confidencialidade não foram

Incluídas. Pendência não atendida

Segunda Resposta: A frase foi inserida no TCLE que está atualizado e anexado no site.

Segunda análise: Pendência atendida.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

1. De acordo com o item X.1.3.b, da Resolução CNS n.º 466/12, o pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais que permitam ao CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos.

2. Eventuais emendas (modificações) ao protocolo devem ser apresentadas, com justificativa, ao CEP, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada.

RIO DE JANEIRO, 26 de Outubro de 2014

Assinado por:
Carlos Alberto Guimarães
(Coordenador)

Endereço: Rua Prof. Rodolpho Paulo Rocco Nº255 Sala 01D-48
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 21.941-913
UF: RJ **Município:** RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)3938-2480 **Fax:** (21)3938-2481 **E-mail:** cep@hucff.ufrj.br

Anexo 2: Registro no registrado no ClinicalTrial.gov

ClinicalTrials.gov PRS
Protocol Registration and Results System

ClinicalTrials.gov PRS DRAFT Receipt (Working Version)
Last Update: 11/03/2015 16:32

ClinicalTrials.gov ID: NCT02598037

Study Identification

Unique Protocol ID: 31573114.1.0000.5257

Brief Title: Association Between the Change of the FTO Gene With Hormones and Food Consumption of Obese

Official Title: Association Between the Change of the FTO Gene With the Hormones Ghrelin and Leptin and Food Consumption of Obese

Secondary IDs:

Study Status

Record Verification: November 2015

Overall Status: Recruiting

Study Start: September 2014

Primary Completion: November 2016 [Anticipated]

Study Completion: March 2018 [Anticipated]

Sponsor/Collaborators

Sponsor: Universidade Federal do Rio de Janeiro

Responsible Party: Principal Investigator
Investigator: Fernanda Cristina Carvalho Mattos Magno [fmagno]
Official Title: MSc
Affiliation: Universidade Federal do Rio de Janeiro

Collaborators:

Oversight

FDA Regulated?: No

IND/IDE Protocol?: No

Review Board: Approval Status: Approved
Approval Number: 845.637
Board Name: Research Ethics Committee of University Hospital Clementino Fraga Filho
Board Affiliation: University Hospital Clementino Fraga Filho
Phone: 55 21 3938-2480
Email: cep@hucff.ufrj.br

Data Monitoring?: No

- Page 1 of 5 [DRAFT] -

Oversight Authorities: Brazil: National Committee of Ethics in Research

Study Description

Brief Summary: Obesity is considered one of the most troubling chronic diseases for public health because of its rapid growth in the population. Many are the causal factors of this epidemic, and in recent years studies suggest the involvement of genetic factors in the etiology of obesity as a risk factor for its development. Polymorphism of the FTO gene is being studied in the past eight years and has been indicated as a predictor of obesity in the population, as well as associations in food intake, raising the possibility of influence in the regulation of hunger and satiety. Accordingly, researchers observed changes in levels of postprandial leptin and ghrelin, which can promote appetite and change the quantity and quality of food intake in subjects with the polymorphism FTO.

Detailed Description: Obesity is a chronic disease with high growth in the world population, as well as being a risk factor for the development of other chronic diseases. Additionally, it is known that it is a multifactorial disease and polygenic, making it difficult to control. It is also recognized that some environmental factors, with emphasis on diet, can modulate the expression of certain genes and may help control obesity.

In recent decades, researchers from several countries has been devoted to studies that aim to propose alternatives for the treatment of obesity, emphasizing the regulation of energy balance and changes in lifestyle (diet and exercise), and try to clarify the reason some individuals more susceptible to these factors than other, favoring the body weight gain. These differences may be explained in part, by genetic factors.

The FTO gene has been considered a strong candidate gene for obesity because of its relation to the secretion of ghrelin, an important orexigenic hormone involved in the regulation of food intake, which could open new perspectives for studies of gene-environment interactions in obesity.

Considering the significant increase of obesity in the world population, it is understood that studies assessing environmental factors - particularly diet - and genes and genetic variants associated with obesity - may represent a major breakthrough in understanding the development of this disease, providing tools to propose possible changes in current dietary prescriptions for this population.

Also highlighted the lack of studies on the subject, which makes this proposal is innovative and unprecedented as it aims to evaluate the relationship between the FTO gene polymorphism with ghrelin secretion and food intake in obese.

It is suggested that obese individuals with a polymorphism in the FTO gene present higher serum concentrations of basal ghrelin and postprandial (after-fat meal), and the usual food intake, as well as the postprandial appetite, are associated with the concentrations basal and postprandial ghrelin, respectively. These results may generate data for changes in dietary prescriptions aimed at reducing the secretion and, or sensitivity to the hormone to control energy intake, whereas the individual's genotype can not be changed voluntarily in the current state of the art.

Conditions

Conditions: Obesity

Keywords: Obesity
Polymorphism
Hormones

Study Design

Study Type: Interventional

Primary Purpose: Screening

Study Phase: N/A

Intervention Model: Single Group Assignment

Number of Arms: 1

Masking: Open Label

Allocation: N/A

Endpoint Classification: N/A

Enrollment: 78 [Anticipated]

Arms and Interventions

Arms	Assigned Interventions
FTO gene polymorphism test meal after fasting for 12 hours	Dietary Supplement: Test meal The test meal will contain the following features: 60% carbohydrate, 20% protein and 30% of total fat, and will be administrada after drawing blood fasting for 12 hours.

Outcome Measures

Primary Outcome Measure:

1. Number of patients with or without polymorphism ih the FTO gene as determined by PCR [Time Frame: Three hours after the test meal] [Safety Issue: No]

Secondary Outcome Measure:

2. Number of Participants With Abnormal Laboratory Values for ghrelin and lepting hormones. [Time Frame: Three hours after the test meal] [Safety Issue: No]

Eligibility

Minimum Age: 20 Years

Maximum Age: 60 Years

Gender: Female

Accepts Healthy Volunteers?: No

Criteria: Inclusion Criteria:

- Adult women with grade 3 obesity.

Exclusion Criteria:

- Pregnant women, teenagers, elderly, use of corticosteroids, medicines for weight loss, bariatric surgery and affected by chronic diseases, such as hyperthyroidism or

hypothyroidism, nephropathy, neuropathy, and inflammatory bowel disease. Also excluded are volunteers who do not fulfill all stages of the study.

Contacts/Locations

Central Contact: Fernanda CM Magno, MSc
Telephone: 55 21 986880838
Email: fernandamattos.nut@gmail.com

Central Contact Backup: Eliane L Rosado, PhD
Telephone: 55 21 2562-6601
Email: elianerosado@nutricao.ufrj.br

Study Officials: Fernanda CM Magno, MSc
Study Principal Investigator
Federal University of Rio de Janeiro

Locations: Brazil
Federal University of Rio de Janeiro - CCS
[Recruiting]
Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, 21941-590
Contact: Fernanda CM Magno, MSc 55 21 98688-0838
fernandamattos.nut@gmail.com
Contact: Eliane L Rosado, PhD 55 21 2562-6601 elianerosado@nutricao.ufrj.br

References

Citations: Brennan IM, Luscombe-Marsh ND, Seimon RV, Otto B, Horowitz M, Wishart JM, Feinle-Bisset C. Effects of fat, protein, and carbohydrate and protein load on appetite, plasma cholecystokinin, peptide YY, and ghrelin, and energy intake in lean and obese men. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2012 Jul;303(1):G129-40. doi: 10.1152/ajpgi.00478.2011. Epub 2012 May 3. PubMed 22556143

Deram S, Villares SM. Genetic variants influencing effectiveness of weight loss strategies. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2009 Mar;53(2):129-38. Review. PubMed 19466204

Druce MR, Wren AM, Park AJ, Milton JE, Patterson M, Frost G, Ghatei MA, Small C, Bloom SR. Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects. Int J Obes (Lond). 2005 Sep;29(9):1130-6. PubMed 15917842

Erdmann J, Töpsch R, Lippl F, Gussmann P, Schusdziarra V. Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin, and glucose. J Clin Endocrinol Metab. 2004 Jun;89(6):3048-54. PubMed 15181097

Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. Science. 2007 May 11;316(5826):889-94. Epub 2007 Apr 12. PubMed 17434869

Haupt A, Thamer C, Staiger H, Tschritter O, Kirchhoff K, Machicao F, Häring HU, Stefan N, Fritsche A. Variation in the FTO gene influences food intake but not energy expenditure. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2009 Apr;117(4):194-7. doi: 10.1055/s-0028-1087176. Epub 2008 Dec 3. PubMed 19053021

Karra E, O'Daly OG, Choudhury AI, Yousseif A, Millership S, Neary MT, Scott WR, Chandarana K, Manning S, Hess ME, Iwakura H, Akamizu T, Millet Q, Gelegen C, Drew ME, Rahman S, Emmanuel JJ, Williams SC, Rüther UU, Brüning JC, Withers DJ, Zelaya FO, Batterham RL. A link between FTO, ghrelin, and impaired brain food-cue responsivity. J Clin Invest. 2013 Aug;123(8):3539-51. doi: 10.1172/JCI44403. Epub 2013 Jul 16. PubMed 23867619

Loos RJ, Bouchard C. Obesity--is it a genetic disorder? J Intern Med. 2003 Nov;254(5):401-25. Review. PubMed 14535962

Chen LP, Thomas EK, Hu SL, Hellström I, Hellström KE. Human papillomavirus type 16 nucleoprotein E7 is a tumor rejection antigen. Proc Natl Acad Sci U S A. 1991 Jan 1;88(1):110-4. PubMed 1846033

Links: URL: https://www.nhlbi.nih.gov/sites/www.nhlbi.nih.gov/files/obesity-evidence-review.pdf
Description MANAGING OVERWEIGHT AND OBESITY IN ADULTS: SYSTEMATIC EVIDENCE REVIEW FROM THE OBESITY EXPERT PANEL, 2013

U.S. National Library of Medicine | U.S. National Institutes of Health | U.S. Department of Health & Human Services

Anexo 3: Termo de consentimento livre e esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E DIETÉTICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Resolução 466, de 12 de Dezembro de 2012. Conselho Nacional de Saúde

Dados de identificação

Título do projeto: Associação entre o polimorfismo genético, liberação do hormônio grelina e consumo alimentar de obesos.

Pesquisador Responsável: Fernanda Cristina Carvalho Mattos Magno

Instituição a que pertence o Pesquisador responsável: Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Telefones para contato: (21) 98688-0838 (Fernanda), (21) 98105-4499 (Eliane), (21) 99115-2141 (Helena), (21) 3938-6601 (Instituto de Nutrição Josué de Castro/UFRJ).

Nome do Voluntário:_____

Idade:_____ anos R.G._____

Termo de Esclarecimento

O (a) Sr (a). está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa "Associação entre a alteração de um gene relacionado com a obesidade, um hormônio relacionado com a sensação de fome (grelina) e consumo alimentar de obesos", de responsabilidade das pesquisadoras Fernanda Cristina Carvalho Mattos Magno, Helena Chrispim Guaraná e Eliane Lopes Rosado. O estudo tem como objetivo avaliar a associação entre a alteração deste gene com o hormônio grelina e o consumo alimentar de obesos.

Justifica esta pesquisa, considerando o aumento expressivo da obesidade na população mundial, entende-se que estudos que avaliem fatores ambientais - particularmente a dieta - e genes e suas alterações associados com a obesidade – possam representar um grande avanço no entendimento do desenvolvimento desta doença, propiciando instrumentos para propor possíveis mudanças nas atuais prescrições dietéticas para esta população.

Os resultados obtidos nesta pesquisa poderão gerar informações importantes para modificações nas prescrições dietéticas objetivando redução da secreção do hormônio grelina (hormônio da fome) e, ou, melhorando a sensibilidade ao hormônio para controle da ingestão energética.

O (a) Sr (a). deverá inicialmente comparecer ao Grupo de Resgate a Autoestima e Cidadania do Obeso (GRACO) para a coleta de dados referente a este estudo. Será necessário responder a um questionário de informações gerais e sobre alimentação e serão feitas orientações referentes ao preenchimento do registro alimentar de 3 dias.

No segundo encontro, o (a) Sr (a). deverá chegar ao Laboratório de Análises Clínicas (LACFAR) da Faculdade de Farmácia na UFRJ em jejum de doze horas, trazendo o registro alimentar preenchido. O Sr (a). irá repousar durante dez minutos. Em seguida, será feita avaliação do peso e da quantidade de gordura do corpo, e coleta de sangue (15 mL, o que corresponde a 3

1

tubos de 5 mL) para avaliação de glicose, insulina, gordura no sangue, hormônio grelina e o gene da obesidade. O sangue será utilizado apenas para esta pesquisa e será coletado na sua veia do antebraço, por pessoal devidamente treinado com higiene, seguindo todas as normas de segurança, utilizando material descartável. O sangue que não for utilizado (sobrar) será descartado (jogado fora).

Após a coleta de sangue, o (a) Sr (a). será encaminhado para o Laboratório de Avaliação Nutricional (LANUTRI) do Instituto de Nutrição da UFRJ onde receberá uma refeição teste. Após a refeição o (a) Sr (a). preencherá uma escala 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após a refeição. Ao final, o (a) Sr (a). será encaminhado ao LACFAR para a segunda coleta de sangue.

No momento da coleta de sangue poderá haver leve ardência decorrente da punção da pele, o que é comum em qualquer coleta de sangue. Complicações de coleta de sangue rotineira são raras e geralmente de pequeno porte. Se houver pequena perda de sangue da veia no local da punção geralmente há um pequeno desconforto, como presença de hematoma local, que desaparece em poucos dias. Os equipamentos e materiais usados para a coleta de sangue serão descartáveis. As medidas de gordura do corpo não causarão desconforto.

Os resultados da pesquisa serão fornecidos somente no final do estudo, quando o (a) Sr (a). será orientado nutricionalmente para ajudar no seu tratamento, baseando-se nos resultados obtidos no estudo e em recomendações já estabelecidas sobre a alimentação saudável.

Em qualquer etapa do estudo, o (a) Sr (a). terá acesso ao profissional responsável que poderá ser encontrado nos telefones: (21) 3938-6601 (Instituto de Nutrição Josué de Castro/UFRJ), (21) 998105-4499 (Dra. Eliane), (21) 98688-0838 (Nutricionista Fernanda) ou (21) 99115-2141 (Nutricionista Helena). Se o (a) Sr (a). tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF) situado à Rua Professor Rodolfo Paulo Rocco, 255 - Cidade Universitária – sala 01D – 46 – 1° andar, telefone (21) 3938-2480– E-mail: cep@hucff.ufrj.br. O CEP funciona de segunda-feira a sexta-feira, de 08 horas às 15 horas.

É garantida a liberdade de querer não participar do projeto de pesquisa ou de retirar o consentimento a qualquer momento, no caso da aceitação, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição.

Os resultados serão analisados em conjunto com os resultados dos outros voluntários, não sendo divulgada a identificação de nenhum voluntário. Os resultados serão apresentados em revistas e congressos científicos.

Os resultados serão tornados públicos; além das garantias de liberdade de se recusar a participar do estudo, de assistência, ressarcimento, indenização e de confidencialidade.

Tanto os resultados de seus exames, quanto à avaliação das fichas preenchidas somente será realizada pelos pesquisadores deste estudo e pelos profissionais que estarão relacionados com seu atendimento e que estarão cuidando do (a) Sr (a)., e não será permitido que outras pessoas vejam seus resultados, garantindo proteção contra qualquer tipo de discriminação.

O (a) Sr (a). poderá, em qualquer momento do estudo, pedir informações e até se atualizar quanto aos resultados parciais da pesquisa.

Esta pesquisa não lhe trará despesas, ou seja, o (a) Sr (a). não pagará pelos exames e pelas demais avaliações. Também não terá remunerações relacionadas à sua participação durante e ao final do estudo.

Caso ocorra algum dano pessoal resultante do estudo o (a) Sr (a). terá direito ao atendimento pelos pesquisadores ou encaminhamento na Instituição.

Consentimento

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo acima citado que li ou que foram lidas para mim.
Eu discuti com as Nutricionistas Fernanda Cristina Carvalho Mattos Magno e Helena Chrispim Guaraná, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de privacidade, confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem penalidades ou prejuízos e sem a perda de atendimento nesta Instituição ou de qualquer benefício que eu possa ter adquirido. Eu receberei uma cópia desse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e a outra ficará com o pesquisador responsável por essa pesquisa. Além disso, estou ciente de que eu (ou meu representante legal) e o pesquisador responsável deveremos rubricar todas as folhas desse TCLE e assinar na ultima folha.

_____
Nome do Sujeito da Pesquisa

_____ Data: ____/____/____
Assinatura do Sujeito da Pesquisa

_____
Nome do Pesquisador Responsável

_____ Data: ____/____/____
Assinatura do Pesquisador Responsável

Anexo 4: Ficha de dados pessoais, socioeconômicos, história da obesidade e perfil alimentar

FICHA DE DADOS PESSOAIS, SOCIOECONÔMICO, HISTÓRIA DA OBESIDADE E PERFIL ALIMENTAR

DADOS PESSOAIS:

Nome completo:_____

Sexo: ( )F ( ) M Naturalidade (em que cidade você nasceu?)_____

Data de nascimento: ___/___/_____ idade: ____anos

Telefones: ( ) _____ ou ( ) _____

Endereço completo: _____

Número:_____Complemento:_____Bairro:_____

Estado civil: ( ) Solteiro ( ) Divorciado / desquitado ( ) Separado ( ) Viúvo
( ) Casado ( ) Morando com alguém como casado.

DADOS SOCIAIS:

1. Qual é a sua escolaridade?

( ) 1° grau incompleto ( ) 1° grau completo ( ) 2° grau incompleto ( ) 2° grau completo
( ) Superior incompleto ( ) Superior completo ( ) Pós-graduando

2. Qual a sua profissão atual?

( ) Nenhuma ( ) Estudante ( ) Dona de casa ( ) Doméstica ( ) Autônomo ( ) professor
( ) Motorista / operário / vendedor ( ) comerciante ( ) Escriturário / secretária / técnico / afins
( ) Diretor / gerente / empresário ( ) Outra: _____

3. Está trabalhando no momento?

( ) Sim, periodo integral ( )Sim, periodo parcial ( ) Sim, mas em "bicos" ( ) Não

4. Suas atividades profissionais (trabalho ou escola) são: ( ) De Dia ( ) De noite

5. Qual é a sua renda familiar? (em salários mínimos)

( ) ¼ - 1 ( ) 1 - 2 ( ) 2 - 5 ( ) 5 - 10 ( ) 10 - 20 ( ) Mais que 20 ( ) Não sabe

6. Sua moradia é:

( ) alugada ( ) própria quitada ( ) própria financiada ( ) moro com outras pessoas

7.1 Com quem você mora? (pode marcar mais de uma opção)

( ) pai/mãe ( ) madrasta/padrasto ( ) irmãos, quantos?_____ ( ) sogro/sogra ( ) nora/genro
( ) filhos adultos, quantos?_____ ( ) filhos adolescentes, quantos?_____ ( ) filhos crianças, quantos?_____
( ) tia/ tio ( ) avó/avô ( ) neto/neta ( ) amigo(s) quantos?_____ ( ) primo (s) quantos?_____
( ) marido/esposa ( ) outros: _____

7.2 Com quantas pessoas você mora? _____

HISTÓRICO MÉDICO:

8. Possui plano de saúde? ( ) sim ( ) não ( ) SUS

9. Você atualmente tem algum problema médico (pode marcar mais de uma opção), como por exemplo:

( ) Diabetes (açúcar no sangue)
( ) Esteatose (gordura no fígado) ( ) Hepatite ( ) Cirrose
( ) Queixas urinárias (ardência ou queimação quando urina)
( ) Problema de estômago (azia, queimação, indigestão) ( ) Úlcera ( ) Gastrite
( ) Diarreia ( ) Constipação (prisão de ventre)
( ) Doença cardíaca (angina, infarto do miocárdio, insuficiência)
( ) Pressão alta
( ) Sinusite ( ) Asma
( ) Hipertireoidismo ( ) Hipotireoidismo

1

( ) Anemia
( ) Dor de cabeça ou enxaqueca
( ) Doença neurológica (Parkinson, esclerose, etc...)
( ) Dores ( ) Costas ( ) Pernas ( ) Articulações ( ) Artrite
( ) Outro, especifique_____

10. E na sua família, alguém apresenta alguma das doenças que foram citadas acima?
( ) não ( ) sim, quais? _____

11. Você tem filho?
( ) não ( ) sim, quantos?_____
Nasceram de parto normal ou cesárea? _____

12. Alguma vez você já esteve internado em hospital?
( ) Não ( ) Sim. Por que motivo? _____

13. Você usou algum desses remédios no último mês? (pode marcar mais de uma opção)
( ) Aspirina
( ) Outras drogas anti-inflamatórias, analgésicas ou derivados de cortisona (celestone, decadron, meticorten, etc...)
( ) Calmantes, ou drogas para diminuir a tensão ou nervosismo, ou para dormir (diazepam, valium, lexotan, lorax, etc...)
( ) Medicação para depressão (trofanil, anafranil, tryptanol, etc...)
( ) Anticonvulsivante (para ataque epiléptico)
( ) Anticoncepcional ("pílula")
( ) Medicação para baixar a pressão arterial
( ) Medicação para asma ou bronquite
( ) Diuréticos (lasix, higroton, etc...)
( ) Hormônios (puran, cynomel, levoid, etc...)
( ) Medicação para diabetes
( ) Medicação do tipo haldol, equilid, amplictil, neozine (antipsicótico)
( ) Antibióticos
( ) Pílulas para emagrecer ou diminuir o apetite ( ) Outras
Especifique quais medicamentos você tomou no último mês (e o número de dias em que os tomou):
_____

14. Você fuma atualmente?
( ) não
( ) sim, quantos cigarros por dia? ( ) 1 - 10 cigarros ( ) 11 - 20 cigarros ( ) Mais que 20 cigarros
Com que idade você começou a fumar? _____anos de idade.
( ) fumava mas parei. Há quanto tempo? _____

15. Pratica atividade física? ( ) Não ( ) sim Qual?_____
Quantas vezes na semana?_____ Duração?_____

16. Em que período do dia você costuma dormir? ( ) Manhã ( ) Tarde ( ) Noite
17. Quantas horas por dia você costuma dormir? _____horas.

HISTÓRIA DA OBESIDADE E PERFIL ALIMENTAR

18. Desde quando você começou a engordar?
( ) Desde bebê ( ) Entre 1 e 5 anos ( ) Entre 6 e 12 anos
( ) Adolescência ( ) Vida adulta ( ) Quando engravidei
( ) Outro: _____

19. Não consegue emagrecer há quanto tempo? _____

20. Seu peso mudou nos últimos 6 meses? _____

21. Marque abaixo quais motivos você acha que fizeram ou fazem você ganhar peso:
( ) Maus hábitos alimentares ( ) Vida profissional ( ) gravidez
( ) Desequilíbrio emocional ( ) Uso de medicamentos
( ) Sedentarismo (não fazer exercício físico)
( ) Desequilíbrio hormonal ( ) Fazer menos atividade física
( ) Outros motivos_____

22. O que você já tentou para perder peso? (Marque mais de uma opção, se necessário)
( ) dietas da moda (de revistas, dicas de conhecidos, da televisão, etc)
( ) dietas com médicos/nutricionistas ( ) spa
( ) medicamentos: _____
( ) exercício físico ( ) psicoterapia ( ) acupuntura

23. Você ingere bebidas alcoólicas com que frequência?
( ) 1 x por semana ( ) 2 a 4 x por semana ( ) todos os dias
( ) não faço uso de bebidas alcoólicas ( ) esporadicamente

24. Como você classifica sua mastigação?
( ) normal ( ) lenta ( ) rápida

25. Quantas vezes você come por dia?
( )1 ( )2 ( )3 ( )4 ( )5 ( )6 ( )7 ( )8 ( )me alimento ao longo do dia
( ) Café da Manhã ( ) Colação ( ) Almoço ( ) Lanche da Tarde ( ) Jantar ( ) Ceia ( )Lanchinhos Extras

26. Que tipo de alimento você prefere?
( ) doce ( ) salgado ( ) tudo

27. Qual o horário que você sente mais fome?
( ) manhã ( ) tarde ( ) noite ( ) madrugada ( ) dia todo

28. Você acorda de madrugada para comer?
( ) não ( ) às vezes ( ) sempre

29. Onde você costuma fazer suas refeições?
( ) casa ( ) rua ( ) metade em casa e metade na rua ( ) na casa de parente ou amigo

30. Você tem hábito de "beliscar"?
( ) não ( ) às vezes ( ) tempo todo

31. Você tem fome quanto tempo após ter ingerido uma refeição tipo almoço?
( ) meia hora após ( ) 1 hora após ( ) 2 horas após ( ) 3 horas após ( ) 4 horas após ( ) 5 horas após
( ) 6 horas após ( ) 7 horas após ( ) 8 a 10 horas após ( ) não como nada até o dia seguinte

32. Quantos copos de água você estima beber por dia?
( ) 1 a 2 ( ) 3 a 5 ( ) 5 a 10 ( ) + de 10

DADOS ANTROPOMÉTRICOS REALIZADOS NA GRACO
Peso atual:_____kg Estatura: _____m IMC atual: _____ Kg/m2 Perímetro da Cintura:_____cm Perímetro do Quadril:_____ cm
DADOS ANTROPOMÉTRICOS UFRJ: Peso atual:_____kg

3

Anexo 5: Escala de Compulsão Alimentar Periódica (ECAP)

ECAP

Nome: _____ Data: ___/___/___

Instruções:

Você encontrará abaixo grupos de afirmações numeradas. Leia todas as afirmações em cada grupo e marque, nesta folha, aquela que melhor descreve o modo como você se sente em relação aos problemas que tem para controlar seu comportamento alimentar.

#1

( ) 1. Eu não me sinto constrangido(a) com o meu peso ou o tamanho do meu corpo quando estou com outras pessoas.

( ) 2. Eu me sinto preocupado(a) em como pareço para os outros, mas isto, normalmente, não me faz sentir desapontado(a) comigo mesmo(a).

( ) 3. Eu fico mesmo constrangido(a) com a minha aparência e o meu peso, o que me faz sentir desapontado(a) comigo mesmo(a).

( ) 4. Eu me sinto muito constrangido(a) com o meu peso e, frequentemente, sinto muita vergonha e desprezo por mim mesmo(a). Tento evitar contatos sociais por causa desse constrangimento.

#2

( ) 1. Eu não tenho nenhuma dificuldade para comer devagar, de maneira apropriada.

( ) 2. Embora pareça que eu devore os alimentos, não acabo me sentindo empanturrado(a) por comer demais.

( ) 3. As vezes tendo a comer rapidamente, sentindo-me então desconfortavelmente cheio(a) depois.

( ) 4. Eu tenho o hábito de engolir minha comida sem realmente mastiga-la. Quando isto acontece, em geral me sinto desconfortavelmente empanturrado(a) por ter comido demais.

#3

( ) 1. Eu me sinto capaz de controlar meus impulsos para comer, quando eu quero.

( ) 2. Eu sinto que tenho falhado em controlar meu comportamento alimentar mais do que a média das pessoas.

( ) 3. Eu me sinto totalmente incapaz de controlar meus impulsos para comer.

( ) 4. Por me sentir tão incapaz de controlar meu comportamento alimentar, entro em desespero tentando manter o controle.

#4

( ) 1. Eu não tenho o hábito de comer quando estou chateado(a).

( ) 2. As vezes eu como quando estou chateado(a) mas, frequentemente, sou capaz de me ocupar e afastar minha mente da comida.

( ) 3. Eu tenho o hábito regular de comer quando estou chateado(a) mas, de vez em quando, posso usar alguma outra atividade para afastar minha mente da comida.

( ) 4. Eu tenho o forte hábito de comer quando estou chateado(a). Nada parece me ajudar a parar com esse hábito.

#5

( ) 1. Normalmente quando como alguma coisa é porque estou fisicamente com fome.

( ) 2. De vez em quando como alguma coisa por impulso, mesmo quando não estou realmente com fome.

( ) 3. Eu tenho o hábito regular de comer alimentos que realmente não aprecio para satisfazer uma sensação de fome, mesmo que fisicamente eu não necessite de comida.

( ) 4. Mesmo que não esteja fisicamente com fome, tenho uma sensação de fome em minha boca que somente parece ser satisfeita quando eu como um alimento, tipo um sanduiche, que enche a minha boca. As vezes, quando eu como o alimento para satisfazer minha "fome na boca", em seguida eu cuspo, assim não ganharei peso.

#6

( ) 1. Eu não sinto qualquer culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais.

( ) 2. De vez em quando sinto culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais.

( ) 3. Quase o tempo todo sinto muita culpa ou ódio de mim mesmo(a) depois de comer demais.

#7

( ) 1. Eu não perco o controle total da minha alimentação quando estou em dieta, mesmo após periodos em que como demais.

( ) 2. As vezes, quando estou em dieta e como um alimento proibido, sinto como se tivesse estragado tudo e como ainda mais.

Anexo 6: Questionário internacional de atividade física (*International Physical Activity Questionnaire* - IPAQ) - versão curta

QUESTIONÁRIO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA – VERSÃO CURTA -

Nome:_____
Data: _____/ _____ / _____ **Idade :** _____ **Sexo: F ( ) M ( )**

Nós estamos interessados em saber que tipos de atividade física as pessoas fazem como parte do seu dia a dia. Este projeto faz parte de um grande estudo que está sendo feito em diferentes países ao redor do mundo. Suas respostas nos ajudarão a entender que tão ativos nós somos em relação à pessoas de outros países. As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na **ÚLTIMA** semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Suas respostas são MUITO importantes. Por favor responda cada questão mesmo que considere que não seja ativo. Obrigado pela sua participação !

Para responder as questões lembre que:
- atividades físicas **VIGOROSAS** são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal
- atividades físicas **MODERADAS** são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza **por pelo menos 10 minutos contínuos** de cada vez.

1a Em quantos dias da última semana você **CAMINHOU** por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

dias _____ por **SEMANA** ( ) Nenhum

1b Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando **por dia**?

horas: _____ Minutos: _____

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **MODERADAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar

moderadamente sua respiração ou batimentos do coração **(POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)**

dias _____ por **SEMANA** ( ) Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

horas: _____ Minutos: _____

3a Em quantos dias da última semana, você realizou atividades **VIGOROSAS** por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar **MUITO** sua respiração ou batimentos do coração.

dias _____ por **SEMANA** ( ) Nenhum

3b Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades **por dia**?

horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um **dia de semana**?
_____horas ____minutos

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um **dia de final de semana**?
_____horas ____minutos

Anexo 7: Ficha para registro dietético habitual

REGISTRO ALIMENTAR DE 3 DIAS

Nome: _____

Olá! Obrigada por participar da nossa pesquisa. A sua participação é muito importante para nós! ☺

Por favor, LEIA COM ATENÇÃO as instruções abaixo para fazer o seu Registro Alimentar corretamente. Se você tiver qualquer dúvida na hora de preencher, releia as instruções ou ligue para uma das pesquisadoras para tirar a sua dúvida:

- **Fernanda: 9 8688 0838**
- **Helena: 9 9115 2141**
- **Eliane: 9 8105 4499**

1. Anote tudo **na hora** que você tiver comendo: o **tipo** de comida ou bebida, as **quantidades** e até as **marcas**, se você souber. Não deixe para anotar depois que tiver acabado de comer para que você não esqueça de anotar nada.
2. Escreva **TODAS** as comidas ou bebidas que você comer ou beber durante o dia inteiro, até mesmo uma balas, chicletes, "beliscadas" etc.
3. Anote o **máximo de informações**, como por exemplo, se você comeu feijão ou feijoada, se o bife era empanado, etc. Se você mesmo (a) preparar a sua refeição, escreva se refogou, quais os **ingredientes** você usou e o quanto de cada. Também escreva se colocou algum **molho** ou **tempero**.
4. Escreva a **colher** utilizada nas medidas (café, chá, sobremesa, sopa ou de arroz). Se estava cheia (fazendo um "morro alto") ou rasa (fazendo um "morro baixinho"); o tamanho da **concha** ou da **escumadeira** utilizada. Tente descrever bem as porções de acordo com os exemplos a seguir: 1 coxa média de frango frita com pele / 4 colheres de sopa de cenoura crua ralada.
5. Coloque o **tamanho dos alimentos** (pequeno, médio e grande). Por exemplo: uma maçã pequena, uma pera grande, 1 fatia média de abacaxi.
6. Diga no seu registro o **tipo** de pão que você costuma comer: pão de forma, branco, francês, integral, etc. Anote **tudo que você colocou no pão** (manteiga, margarina, geleia, requeijão, queijo, etc e diga **qual foi o tipo**: se era comum ou light ou diet ou 0% de gordura, etc). Anote todos os **ingredientes** utilizados nas saladas e sanduíches (exemplo: alface, tomate, vinagrete, cenoura crua ralada e etc.)
7. Você só precisa preencher a tabela com o que você comeu ou bebeu, não precisa escrever em todos os "quadradinhos". Mas se precisar, use mais folhas para escrever o seu registro alimentar. É muito importante que não falte nenhuma informação.

Atenção: para escrever o DIA 3 você deve escolher um dia atípico, ou seja, um dia que não seja comum. Pode ser sábado ou domingo ou feriado ou dia de folga.

DIA 1

Data: _____/_____/_____

Dia da semana: ( ) 2ª feira ( ) 3ª feira ( ) 4ª feira ( ) 5ª feira ( ) 6ª feira

Escreva abaixo a hora e onde você comeu:	Escreva abaixo O QUE VOCE COMEU e a QUANTIDADE DE CADA COMIDA
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	

DIA 2

Data: _____/_____/_____

Dia da semana: ( ) 2ª feira ( ) 3ª feira ( ) 4ª feira ( ) 5ª feira ( ) 6ª feira

Escreva abaixo a hora e onde você comeu:	Escreva abaixo O QUE VOCE COMEU e a QUANTIDADE DE CADA COMIDA
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	

DIA 3 (dia atípico)

Data: _____/_____/_____

( ) Sábado ( ) Domingo ( ) Folga ( ) Feriado

Escreva abaixo a hora e onde você comeu:	Escreva abaixo O QUE VOCE COMEU e a QUANTIDADE DE CADA COMIDA
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	
Hora: Local:	

Anexo 8: Maltodextrina (Nutrisport Carboplex Malto Advanced Nutrition®)

Advanced NUTRITION

LAUDO DE ANÁLISE
NUTRISPORT CARBOPLEX MALTO 1KG (SACO)

CÓDIGO:	01PAN18428	SABOR:	TANGERINA	NA:	1242/14
LOTE:	4060521	DATA FABR.:	26/06/2014	DATA VAL.:	26/06/2015

ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO

ANÁLISES SENSORIAIS			
Aspecto	Pó fino de cor levemente rosado.	Conforme	01 RPA 071
Aroma / Sabor	Característico	Conforme	01 RPA 071
ANÁLISE S FÍSICO-QUÍMICAS			
pH	2,50 a 3,50	3,45	USP 27 - <791> pág 2844
Umidade	2,0 a 5,0%	4,5%	Farm. Brasil. 5ª Edição 5.2.9 – pág. 91
Brix	12,0 a 14,0°	14,0°	Farm. Brasil. 5ª Edição 5.2.6 – pág. 86 - 87
ANÁLISE S MICROBIOLÓGICAS			
Coliformes a 45ºC *	≤ 1,0 x 10^1 UFC/g	< 1,0 x 10^1 UFC/g	Inst. Norm. Nº 62 de 26 de Agosto de 2003
Estafilococos coagulase positiva *	≤ 5,0 x 10^2 UFC/g	< 1,0 x 10^2 UFC/g	Inst. Norm. Nº 62 de 26 de Agosto de 2003
Salmonella sp *	Ausência/25g	Ausência/25g	Inst. Norm. Nº 62 de 26 de Agosto de 2003

SUPERVISOR(A) DO C.Q.	
APROVADO ■	REPROVADO □

Anderson Borges Rocha	Gilvan A. de Freitas
Técnico em Laboratório	Supervisor Controle de Qualidade

Advanced Nutrition Indústria e Comércio de Alimentos e Cosméticos Ltda.
ESCRITÓRIO: Rua Marquês de Pinedo, 71 - CEP: 22.231-100 - Laranjeiras - Rio de Janeiro - RJ - Tel.: (21) 3237-6100 - Fax: (21) 3237-6103
FÁBRICA: Rod. BR - 040 Km 36 - CEP: 28.845-000 - Alberto Torres - Areal - RJ - Tel./Fax: (24) 2257-6300
www.advancednutrition.com.br

LAUDO DE ANÁLISE

NUTRISPORT CARBOPLEX MALTO 1KG (SACO)

CÓDIGO:	01PAN18428	SABOR:	TANGERINA	NA:	2458/14
LOTE:	4121008	DATA FABR.:	01/12/2014	DATA VAL.:	01/12/2015

ANÁLISE DE PRODUTO ACABADO

ANÁLISES SENSORIAIS			
Aspecto	Pó fino de cor branco.	Conforme	01 BPA 071
Aroma / Sabor	Característico	Conforme	01 BPA 071
ANÁLISE S FÍSICO-QUÍMICAS			
pH	2,50 a 3,50	3,33	USP 27 - <791> pág 2344
Umidade	2,0 a 5,0%	4,6%	Farm. Brasil. 5ª Edição 5.2.9 – pág. 91
Brix	12,0 a 14,0°	13,0°	Farm. Brasil. 5ª Edição 5.2.6 – pág. 86 - 87
ANÁLISE S MICROBIOLÓGICAS			
Coliformes a 45ºC *	≤ 1,0 x 10^{1} UFC/g	< 1,0 x 10^{1} UFC/g	Inst. Norm. Nº 62 de 26 de Agosto de 2003
Estafilococos coagulase positiva *	≤ 5,0 x 10^{2} UFC/g	< 1,0 x 10^{2} UFC/g	Inst. Norm. Nº 62 de 26 de Agosto de 2003
Salmonella sp *	Ausência/25g	Ausência/25g	Inst. Norm. Nº 62 de 26 de Agosto de 2003

SUPERVISOR(A) DO C.Q.	
APROVADO ■	REPROVADO ☐

Anderson Borges Rocha	Gilvan A. de Freitas
Técnico em Laboratório	Supervisor Controle de Qualidade

Advanced Nutrition Indústria e Comércio de Alimentos e Cosméticos Ltda.
ESCRITÓRIO: Rua Marquês de Pinedo, 71 - CEP: 22.231-100 - Laranjeiras - Rio de Janeiro - RJ - Tel.: (21) 3237-6100 - Fax: (21) 3237-6103
FÁBRICA: Rod. BR - 040 Km 35 - CEP: 25.845-000 - Alberto Torres - Areal - RJ - Tel./Fax: (24) 2257-9300
www.advancednutrition.com.br

Anexo 9: Protocolo de extração de DNA

1. Pipetar 20 microlitros (µl) de protease em um microtubo de 1,5 mL;
2. Adicionar 200µl de sangue da amostra a ser analisada ao microtubo;
3. Adicionar 20µl de RNAse e vortexar brevemente;
4. Incubar por 2 minutos;
5. Adicionar 200µl de tampão *lysis buffer* ao microtubo;
6. Vortexar por 5 segundos;
7. Incubar a 55ºC por 10 minutos;
8. Adicionar 200µl de etanol (96-100%);
9. Vortexar por 5 segundos;
10. Aplicar a mistura toda na coluna;
11. Centrifugar a 8.000 rotações por minuto (rpm) por 2 minutos;
12. Transferir a coluna para um tubo novo;
13. Adicionar 500µl de tampão *wash buffer* 1 na coluna;
14. Centrifugar a 8.000 rpm por 2 minutos;
15. Transferir a coluna para um tubo novo;
16. Adicionar 500µl de tampão AW2 na coluna;
17. Centrifugar a 15.000 rpm por 5 minutos;
18. Descartar o filtrado;
19. Reintroduzir a coluna no microtubo;
20. Centrifugar a 15.000 rpm por 2 minutos;
21. Inserir a coluna em um microtubo de 1,5 mL;
22. Adicionar 200µl de tampão *Elution Buffer*;
23. Incubar em temperatura ambiente por 5 minutos;
24. Centrifugar a 15.000 rpm por 5 minutos;
25. Descartar a coluna e estocar o microtubo de 1,5 mL no freezer.

Anexo 10: Escala Analógica Visual (EAV)

Nome:_____

ESCALA ANALÓGICA VISUAL

T_0
Hora:____:_____
Data:___/___/___

1) Quanta fome você sente?

_____

Não estou com nenhuma fome — Nunca estive com tanta fome

2) Quão satisfeito você se sente?

_____

Estou completamente insatisfeito — Não consigo comer mais nada

3) Quão completo ("cheio") você se sente?

_____

Nenhum pouco completo — Totalmente completo

4) Quanto você pensa que pode comer?

_____

Não posso comer nada — Posso comer muito

5) Você gostaria de comer algo doce?

_____

Sim, gostaria muito — Não, nenhum pouco

6) Você gostaria de comer algo salgado?

_____

Sim, gostaria muito — Não, nenhum pouco

7) Você gostaria de comer um tira-gosto?

_____

Sim, gostaria muito — Não, nenhum pouco

8) Você gostaria de comer algo gorduroso?

_____

Sim, gostaria muito — Não, nenhum pouco

1