



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Marcos Ricardo da Silva Rodrigues

Adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial em pacientes diabéticos e com IMC < 35 Kg/m²: análise da resposta clínica, laboratorial, entero-hormonal e da expressão do gene p53 na mucosa intestinal

Rio de Janeiro

2012

Marcos Ricardo da Silva Rodrigues

Adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial em pacientes diabéticos e com IMC<35 Kg/m²: análise da resposta clínica, laboratorial, entero-hormonal e da expressão do gene p53 na mucosa intestinal

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Quirillo Milléo

Coorientador: Dr. Roberto Ferreira Artoni

Rio de Janeiro

2012

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

R696 Rodrigues, Marcos Ricardo da Silva.
Adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial em pacientes diabéticos e com IMC<35 Kg/m²: análise da resposta clínica, laboratorial, enterohormonal e da expressão do gene p53 na mucosa intestinal / Marcos Ricardo da Silva Rodrigues. – 2012.
129f.

Orientador: Fábio Quirillo Milléo.

Coorientador: Roberto Ferreira Artoni.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental.

1. Diabetes Mellitus Tipo 2 - Teses. 2. Gene p53 – Teses. 3. Obesidade – Cirurgia. 4. Mucosa intestinal. I. Milléo, Fábio Quirillo. II. Artoni, Roberto Ferreira. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.379-008.64

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Marcos Ricardo da Silva Rodrigues

Adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial em pacientes diabéticos e com IMC<35 Kg/m²: análise da resposta clínica, laboratorial, entero-hormonal e da expressão do gene p53 na mucosa intestinal

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 17 de maio de 2012.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Fábio Quirillo Milléo (Orientador)
Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG

Prof. Dr. Antonio Carlos Ligocki Campos
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Prof. Dr. Luiz Guilherme Kraemer de Aguiar
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Marco Aurélio Santo
Universidade de São Paulo - USP

Prof. Dr. Paulo Cezar Freitas Mathias
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Rio de Janeiro

2012

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à atividade docente, objetivo maior que me ajudou a seguir em frente...

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo Fábio Quirillo Milléo, pessoa de visão ampla e de caráter realizador, que se manteve fiel ao nosso objetivo em comum, mesmo diante das dificuldades encontradas.

À minha amada esposa Ana Paula Kravchychyn Rodrigues, que participou desde projeto desde o início, me dando apoio, e cuidando dos meu maiores bens: Henrique e Gabriela.

Aos meus pais, Antônio Francisco da Silva Rodrigues e Maria Aparecida Lima Rodrigues, pela formação pessoal que me proporcionaram, e pela forma sincera que me deram apoio através de palavras e orações.

Às minhas amigas: Dona Maria Inez Almeida de Oliveira, Cláudia de Oliveira Vianna e Verônica de Oliveira Vianna, pela boa companhia e e por me proporcionarem um ambiente familiar no Rio durante minhas passagens pela cidade.

À pesquisadora Elaine Vieira (Universidade de Barcelona), cujas análises dos resultados obtidos referentes à expressão genética, foram determinantes para o desenvolvimento da tese.

Aos Professores pesquisadores Roberto Ferreira Artoni, Viviane Nogaroto e ao mestrando Paulo Vinícius Svidinicki (PG/Biologia Evolutiva-UEPG), pela realização dos exames de rt-PCR deste trabalho.

Ao Professor pesquisador Giovani Marino Fávero, pelo apoio na realização dos exames de ELISA assim como o apoio na análise estatística dos dados da pesquisa.

À coordenação da FISCLINEX, na figura do Professor Egberto Gaspar de Moura, Patrícia Lisboa da Silva e Alex C Manhães, pela oportunidade proporcionada.

Aos Designers: Juliana Paula da Silva Rodrigues e Daniel Genaro, pela apoio na confecção e adaptação de figuras.

Às doutorandas da FISCLINEX Natália S Lima e Ana Paula S. da Silva, e mestranda da PG/Biologia Evolutiva-UEPG Priscila Estabile, pelo apoio na realização dos exames de *western blot*.

À secretária da FISCLINEX Amélia Gomes, pela orientação e apoio dispendido durante todo o período do curso.

Às secretárias Liliane Horn e Heloise Cabral pelo apoio à conciliação da minha vida de doutorando e a vida de médico.

À enfermeira Fabiana Travalini e à secretária Karina Boamorte, pelo auxílio na coleta de dados assim como assistência aos pacientes durante o pré e pós-operatório.

À técnica de enfermagem Giselly Peleskcis, pela ajuda na coleta e preservação do material obtido por endoscopia digestiva, além da assistência prestada aos pacientes.

Aos médicos anestesistas Gilson Gdla, Luiz Carlos da Silva, Juliano Issa, Márcio Issa, Lúcio Issa e Tadeu Mazurek, pelos cuidados prestados aos pacientes do protocolo assim como à colega de trabalho Daniella Mattar, pelo apoio na realização dos meus compromissos de trabalho.

Às endocrinologistas Susan Onuma, Margareth Zych e Cinthia Urcichi, assim como à nutricionista Rafaela Lunelli, pelo cuidado aos pacientes.

Ao laboratório do Hospital Vicentino, na pessoa do Professor Alceu Toledo e da farmacêutica Rosiane Valenga, pelo apoio e orientação dados na realização das coletas e interpretação dos exames laboratoriais.

À amiga economista, Deneive Leonor Costa, pela orientação metodológica e apoio diante das dificuldades encontradas na confecção da tese.

A todos, que de alguma forma torceram ou rezaram por mim...

E, de forma especial, agradeço a DEUS, por ter me guiado durante toda a trajetória do curso, e por ter permitido que estudássemos um pouco de sua Obra.

Não chores, meu filho;
Não chores, que a vida
É luta renhida:
Viver é lutar.
A vida é combate,
Que os fracos abate,
Que os fortes, os bravos,
Só pode exaltar
(...)

*Trecho de Canção do Tamoio
Gonçalves Dias*

RESUMO

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

O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença de prevalência crescente na população mundial, sendo associado ao aumento de diversas comorbidades. A relação entre o trato digestivo e o DM2 tem sido fortalecida a partir dos resultados das diferentes cirurgias metabólicas frente à remissão do distúrbio endócrino. Alterações morfológicas hipertróficas no epitélio intestinal são percebidas nos estágios iniciais da doença e parece ter papel primordial na instalação da hiperglicemia crônica. O gene p53 participa ativamente dos processos de regulação do crescimento epitelial intestinal e pode sofrer alteração de sua expressão em estados diabéticos. Objetiva-se avaliar os resultados clínicos e laboratoriais de pacientes DM2 e com índice de Massa Corpórea (IMC) >25 e <35 Kg/m² submetidos a cirurgia metabólica denominada adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial (DSP) e avaliar o comportamento da expressão do gene p53 na mucosa intestinal no período pré e pós-operatório. Nove pacientes DM2, com IMC < 35 Kg/m² foram operados pela técnica DSP. Biópsias de duodeno e íleo foram colhidas no estado diabético (pré e transoperatório respectivamente) e, 3 meses após a cirurgia, através de endoscopia digestiva alta. Foram comparados os dados de evolução antropométrica (IMC) e laboratorial no período pré e pós-operatório. Através do método *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) foram determinados os níveis dos entero-hormônios *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) e *glucose-dependent insulinotropic peptide* (GIP), no pré e pós-operatório, em jejum e pós-prandial nos períodos 30', 60', 90' e 120'. A expressão do gene p53, foi avaliada por *real time polymerase chain reaction* (qRT-PCR) e *western blot*, nos dois diferentes momentos. As variáveis: glicemia de jejum e pós-prandial (2 horas), trigliceridemia de jejum, hemoglobina glicada (HbA1c) e peptídeo C foram analisadas. As médias dos parâmetros laboratoriais foram comparadas pela análise multivariada ANOVA e após teste-Tukey. A média de expressão relativa do gene p53 foi comparada nos dois períodos pelo teste *t-student*. Os resultados evidenciaram que entre maio e dezembro de 2010, nove pacientes (4 homens, 5 mulheres) DM2 e com IMC entre 26 e 34 Kg/m² foram submetidos a DSP. A média de IMC do grupo operado foi de 31,3. Houve queda do IMC média de 23% após um ano. Houve queda significativa ($p < 0,05$) nos níveis de triglicerídeos, glicemia de jejum e pós-prandial (2 horas), HbA1c assim como aumento do peptídeo-C ($p < 0,05$), quando comparados os períodos pré e pós-operatório. Os níveis séricos de GLP-1 foram significativamente maiores no pós-operatório ($p < 0,05$), tanto em jejum como pós-prandial sendo que houve diminuição dos níveis de GIP, contudo sem significância estatística. O gene p53 sofreu aumento significativo de sua expressão relativa (qRT-PCR) ($p < 0,05$) no período pós-operatório na mucosa duodenal e uma tendência de aumento no íleo, contudo sem significância estatística. A análise da expressão ao nível proteico foi bem sucedida somente no íleo, também mostrando tendência de aumento. Conclui-se que a DSP foi capaz de controlar satisfatoriamente o DM2 em pacientes com IMC < 35 Kg/m². Houve aumento da secreção de GLP-1 e tendência de diminuição do GIP. Houve aumento da expressão do p53 na mucosa intestinal, no período pós-operatório, após o controle do diabetes, quando comparada ao período pré-operatório.

Palavras-chave: Cirurgia Metabólica. Diabetes. p53. Hipertrofia Intestinal. Bipartição intestinal.

ABSTRACT

Diabetes mellitus type 2 (DM2) is a worldwide increasing prevalence disease, being related to a variety of comorbidities. The relationship between the digestive tract and DM2 has been strengthened by the results of different metabolic surgery procedures on resolution of the endocrine disorder, before weight loss achievement. Hypertrophic morphological changes in the intestinal epithelium are observed in the early stages of disease development and seems to have a pivotal role in the establishment of chronic hyperglycemia. The p53 gene directly participates on regulation of growth processes of the intestinal epithelium, and its expression has been shown to be altered in diabetic states. The objectives were to evaluate clinical and laboratory results in DM2 patients, presenting Body Mass Index (BMI) >25 and <35 Kg/m², undergoing a metabolic surgery procedure called digestive adaptation with partial duodenal switch (DSP). To assess p53 gene expression behavior in intestinal mucosa, on pre and postoperative period. Nine patients presenting DM2 and BMI below 35 Kg/m² underwent DSP. Biopsies of the duodenum and intermediate portion of the ileum were undertaken in diabetic state (pre and transoperative respectively) and 3 months after surgery by upper gastrointestinal endoscopy. The evolution of anthropometric (BMI) and laboratory parameters were accessed on postoperative period. Serum levels of enterohormones glucagon-like peptide-1 (GLP-1) and glucose-dependent insulinotropic peptide (GIP) were determined by the method enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), pre and postoperatively, on fasting and postprandial state (30', 60' 90 and 120') after ingestion of a standard meal. The p53 gene expression was evaluated by real time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and western blot, on two different periods. The variables: fasting and postprandial (2 hours) glycemia, fasting triglycerides (TG), glycosylated hemoglobin (HbA1c) and C-peptide were undertaken. The mean levels of laboratorial parameters were compared by multivariate analyses (ANOVA) and Tukey test. The mean expression of the p53 gene was compared in two different periods by T test. Between May and December 2010, four men and 5 women were operated on. The mean BMI was 31,1. There was a decrease in BMI of 23% after one year of surgery. There was a significant decrease ($p < 0,05$) on fasting TG and HbA1c levels as well as glucose levels on fasting and postprandial state (2 hours) when compared pre and postoperatively. There was an increase ($p < 0,05$) in C-peptide levels after surgery. Serum levels of GLP-1 were significantly higher postoperatively ($p < 0,05$), on both fasting and postprandial condition, and there was a decrease, not significant, on GIP levels. The p53 relative gene expression showed a significant increase ($p < 0,05$) in the postoperative period in duodenal mucosa (transcriptional state) and showed an increasing trend in the ileum, but not statistically significant. Only ileum portion results were successfully accessed by western blot analysis, showing an increasing trend as well. The DSP procedure was successfully capable to control type 2 diabetes in patients presenting BMI <35 Kg/m². There was a significant enhancement of GLP-1 secretion and a decreasing trend for GIP on postoperative period. There was increased expression of mucosal p53 in the postoperative period after the control of DM2, when compared to diabetic pre-operative state.

Keywords: Metabolic Surgery. Diabetes. p53. Intestinal Hypertrophy. Transit bipartition

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fatores relacionados ao desenvolvimento de hiperglicemia crônica.....	21
Figura 2 – Molécula de proglucagon.....	25
Figura 3 – Vias neurais de estimulação do GLP-.....	27
Figura 4 – Vilos de mucosa ileal sob magnificação de imagem endoscópica (100X).....	30
Figura 5 – Arquitetura do epitélio intestinal mostrando vilos e criptas.....	31
Figura 6 – (A) Epitélio intestinal hipertrofiado-rato wistar STZ; (B) rato wistar controle.....	34
Figura 7 – p53 e stress oxidativo celular.....	37
Figura 8 – Relação entre os níveis de p53, poliaminas e o crescimento mucoso intestinal.....	39
Figura 9 – Técnicas mais realizadas de cirurgia bariátrica.....	42
Figura 10 – Técnicas de exclusão duodenal avaliada por Rubino.....	43
Figura 11 – Gastrectomia Vertical com interposição ileal.....	48
Figura 12 – Gastroentero-omentectomia.....	49
Figura 13 – Adaptação digestiva com duodenal switch parcial.....	51
Figura 14 – Resultado da expressão do p53 e actina por western blot (mucosa ileal)..	72
Figura 15 – Resultado da avaliação da expressão do p53 por <i>western blot</i> no duodeno.....	73
Figura 16 – Bypass duodeno jejunal sem restrição gástrica.....	78

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –	Evolução do IMC.....	66
Gráfico 2 –	Concentrações séricas de peptídeo C.....	67
Gráfico 3 –	Glicemia de Jejum.....	67
Gráfico 4 –	Glicemia pós-prandial.....	68
Gráfico 5 –	Médias (%) de hemoglobina glicada nos diferentes períodos.....	69
Gráfico 6 –	Níveis de triglicerídeos séricos em jejum.....	69
Gráfico 7 –	Soma da área sob a curva dos níveis de GLP-1 em jejum e pós prandiais, no período pré e pós-operatório (Nota: $p < 0,05$).....	70
Gráfico 8 –	Soma da área sob a curva dos níveis de GIP em jejum e pós prandiais, no período pré e pós-operatório (Nota: $p = 0,12$).....	70
Gráfico 9 –	Expressão do p53 relativa ao 18S (controle interno) por rt-PCR (mucosa duodenal).....	71
Gráfico 10 –	Expressão do p53 relativa ao 18S (controle interno) por rt-PCR (mucosa ileal).....	71
Gráfico 11 –	p53 (proteína) na mucosa ileal no pré e pós-operatório (corrigido pela actina).....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Correlação entre os níveis séricos da HbA1C e os níveis médios de glicemia.....	19
Tabela 2 –	Eficácia de diferentes técnicas de operações bariátricas quanto à comorbidades metabólicas.....	46
Tabela 3 –	Distribuição dos Pacientes em relação à idade, tempo de diagnóstico do DM2 e IMC inicial.....	64
Tabela 4 –	Medicações hipoglicemiantes em uso.....	65
Tabela 5 –	Médias (%) de hemoglobina glicada nos diferentes períodos.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA –	<i>American Diabetes Association</i>
AGL –	ácidos graxos livres
AMPc –	adenosina monofosfato cíclico
ANOVA –	análise de variância
ASCPD –	área sob a curva de progresso da doença
BGA –	banda gástrica ajustável
BGYR –	bypass gástrico em Y de Roux
CCK –	Colecistocinina
CuZn-SOD–	cobre zinco superóxido dismutase
D.P. –	desvio padrão
DBP –	Derivação Biliopancreática
DM2 –	Diabetes <i>Mellitus</i> tipo 2
DPPIV –	<i>dipeptidil peptidase-IV</i>
DSP –	<i>Adaptação digestiva com Duodenal Switch</i> Parcial
EDTA –	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
ELISA –	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ERRO –	Espécies reativas de oxigênio
GH –	hormônio do crescimento
GIP –	<i>glucose-dependent insulintropic peptide</i>
GK –	Goto Kakizaki
GLP-1–	<i>glucagon-like peptide-1</i>
GLP-2 –	<i>glucagon-like peptide-2</i>
GPx –	glutathione peroxidase
H ₂ O ₂ –	peróxido de hidrogênio
HbA _{1c} –	hemoglobina glicada
HDL –	<i>high density lipoprotein</i>
HPLC –	Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
IDF –	Federação Internacional de Diabetes
IGF-1R–	<i>insulin growth factor-1 receptor</i>
IGT –	intolerantes à glicose
IMC –	índice de Massa Corpórea
INSPAM –	Instituto de Pesquisa Aplicada em Medicina

IR–	Insulina regular
LDL –	<i>low density lipoprotein</i>
LETO –	Long-Evans Tokushima Otsuka
MAPK –	<i>mitoten-activated protein kinase</i>
Mn-SOD –	manganês superóxido dismutase
NGSP –	National Glycohemoglobin Standart Program
NO –	óxido nítrico
NPH–	insulina NPH
OGTT –	teste de tolerância a glicose
OH–	radicais hidroxila
OLETF –	<i>Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty</i>
PYY –	peptídeo YY
rt-PCR –	<i>real time polymerase chain reaction</i>
SBC –	Sociedade Brasileira de Cardiologia
SG –	<i>sleeve gastrectomy</i>
SI –	sucrase-isomaltase
STZ –	streptozotocina intraperitoneal
UEPG–	Universidade Estadual de Ponta Grossa
WHO –	Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	17
1	REVISÃO DA LITERATURA	19
1.1	Diabetes mellitus tipo 2	19
1.2	Entero-Hormônios Incretínicos	24
1.3	Epitélio intestinal no diabetes	29
1.3.1	<u>p53 e o epitélio intestinal</u>	35
1.4	Cirurgia bariátrica e metabólica	40
1.4.1	<u>Conceitos gerais</u>	40
1.4.2	<u>Conceitos fisiológicos da cirurgia metabólica</u>	42
1.4.3	<u>Efeito metabólico das técnicas cirúrgicas</u>	45
1.4.4	<u>Adaptação Digestiva com Duodenal Switch Parcial (DSP)</u>	48
2	OBJETIVOS	53
3	PACIENTES E MÉTODO	53
3.1	Seleção dos pacientes	53
3.1.1	<u>Critérios de inclusão</u>	54
3.1.2	<u>Critérios de exclusão</u>	54
3.2	Coleta e análise do material	54
3.2.1	<u>Coleta da mucosa duodenal e ileal</u>	55
3.2.1.1	Ensaio de expressão gênica por rt-PCR.....	55
3.2.1.2	Ensaio de expressão gênica por <i>Western Blot</i>	55
3.2.2	<u>Sangue periférico</u>	58
3.2.2.1	Glicemia de jejum e pós-prandial.....	58
3.2.2.2	Hemoglobina glicada.....	58
3.2.2.3	Triglicérides plasmáticos de jejum.....	59
3.2.2.4	Peptídeo C.....	59
3.2.2.5	GLP-1 e GIP.....	59
3.3	Cirurgia metabólica (adaptação digestiva com duodenal switch-parcial) 60	
3.3.1	<u>Pré-operatório</u>	60
3.3.2	<u>Procedimento operatório</u>	60
3.3.3	<u>Acompanhamento pós-operatório</u>	61
3.4	Análise Estatística	62
3.4.1	<u>Análise das variáveis laboratoriais</u>	62

3.4.2	<u>Avaliação entero-hormonal</u>	62
3.4.3	<u>Avaliação da expressão gênica</u>	63
3.4.3.1	qrt-PCR-.....	63
3.4.3.2	<i>Western Blot</i>	63
4	RESULTADOS	64
4.1	Casuística	64
4.2	Resultados clínicos	64
4.2.1	<u>Medicamentos em uso</u>	64
4.2.2	<u>Evolução do índice de massa corpórea</u>	65
4.2.3	<u>Complicações</u>	66
4.3	Resultados laboratoriais	66
4.3.1	<u>Peptídeo C</u>	66
4.3.2	<u>Glicemia de jejum e pós-prandial</u>	67
4.3.3	<u>Hemoglobina glicada</u>	68
4.3.4	<u>Triglicerídeos de jejum</u>	69
4.3.5	<u>Entero-hormonais GLP-1 e GIP</u>	70
4.4	Ensaio de expressão gênica	71
4.4.1	<u>rt-PCR</u>	71
4.4.2	<u>Western-blot</u>	72
5	DISCUSSÃO	74
6	CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
6.1	Conclusão	92
6.2	Considerações finais	92
	REFERÊNCIAS	94
	APÊNDICE A - Dieta padronizada.....	110
	APÊNDICE B - Tabela com a evolução individual do IMC nos 3,6 e 12 meses de pós-operatório.....	111
	APÊNDICE C - Perda em porcentagem do IMC nos 3,6 e 12 meses de pós-operatório.....	113
	APÊNDICE D - Tabela com evolução individual do peptídeo C.....	114
	APÊNDICE E - Tabela individualizada das Glicemias em Jejum.....	115
	APÊNDICE F - Tabela individualizadas da Glicemias pós-prandiais.....	116
	APÊNDICE G - Tabela Individualizada dos níveis de hemoglobina glicada.....	117

APÊNDICE H – Tabela individualizada com os níveis séricos de Triglicerídeos em jejum.....	118
APÊNDICE I – Valores individuais séricos de GLP-1.....	119
APÊNDICE J – Valores individuais séricos de GIP.....	120
APÊNDICE L – Valores de $2-\Delta\Delta ct$ da amostra duodenal.....	121
APÊNDICE M – Valores de $2-\Delta\Delta ct$ da amostra ileal.....	122
APÊNDICE L – Tabela individualizada da evolução do Hematócrito.....	123
ANEXO A - Ingenuity® Microarray - Células Intestinais.....	124
ANEXO B – Via metabólica do p53/epitélio intestinal – Microarray.....	125
ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética.....	126
ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	127
ANEXO E – Critérios diagnósticos do Diabetes – ADA, 2012.....	128
ANEXO F – Classificação dos níveis de triglicerídeos séricos.....	129

INTRODUÇÃO

O DM2 é uma doença de prevalência crescente na população mundial. Dentre outras comorbidades, a importância do seu controle se baseia principalmente nos altos índices de doenças cardiovasculares geradas pelo distúrbio metabólico. (TURNER et al., 1998) A fisiopatologia do DM2 é considerada multifatorial, sendo que DeFronzo (1988) sugere que a resistência à insulina em diferentes tecidos como o muscular e o hepático e, de maneira mais contundente, a insuficiência das células beta pancreáticas em secretar insulina possam ser os principais determinantes da doença.

Vários fatores influenciam a capacidade de secreção insulínica pancreática. A hiperglicemia, em picos ou crônica, influencia negativamente a vitalidade da massa celular beta. A glucotoxicidade, como é chamado o efeito tóxico dos altos níveis glicêmicos, leva a desensibilização, exaustão e apoptose das células beta, altamente sensíveis às oscilações séricas da glicose. (DONATH et al., 2004)

Evidências indicam que a hiperglicemia pós-prandial seja um evento precoce no desenvolvimento do DM2, tendo valor relevante na identificação de pacientes com predisposição aumentada para o desenvolvimento de hiperglicemia crônica. (SAAD et al., 1988; LEOVITZ, 2001) Drogas como a acarbose, que diminuem a absorção de glicose no intestino proximal, atenuam a hiperglicemia pós-prandial e a taxa de progressão de pacientes intolerantes à glicose para o DM2. (CHIASSON et al., 2002) O aumento da capacidade de absorção da mucosa intestinal parece exercer um papel determinante no desenvolvimento do distúrbio do metabolismo da glicose, sendo evidenciado nas fases iniciais da doença.

Há décadas, diferentes estudos vêm relacionando alterações morfológicas na mucosa gastrointestinal, mais especificamente o intestino delgado, com a condição mórbida do DM2. (JERVIS et al., 1966; MILLER et al., 1977; SCHEDL et al., 1971) Pesquisas em ratos e humanos comprovam que a hipertrofia da mucosa do intestino delgado associado ao aumento de sua capacidade absorptiva, está diretamente relacionada ao desenvolvimento do DM2. (FUJITA et al., 1998; VERDAM et al., 2011) O mecanismo exato pela qual ocorre a hipertrofia intestinal em diferentes modelos experimentais de diabetes não foi completamente elucidado. É sugerido que a inibição da apoptose celular no epitélio seja um fator determinante da hipertrofia. (NODA et al., 2001)

O gene p53, amplamente estudado em células neoplásicas, tendo em vista o seu efeito supressor tumoral, atua em diferentes vias metabólicas de células normais. (VOUSDEN et al.,

2009) Dentre outras funções, age no controle do ciclo celular, inibindo sua divisão e muitas vezes agindo como fator pró-apoptótico. O gene tem papel regulador negativo do crescimento da mucosa intestinal, dependendo de seu nível de expressão e ativação. (ZHANG, 2007) O diabetes mellitus tem sido indicado como capaz de influenciar a expressão de diferentes genes, inclusive o p53. (YE et al., 2011)

A cirurgia metabólica, visando à correção de distúrbios metabólicos como o DM2, foca suas intervenções na busca da modulação da secreção de hormônios incretínicos intestinais, além de promover uma diminuição do estímulo alimentar na mucosa intestinal dos segmentos proximais. O desvio do trânsito alimentar do intestino proximal (duodeno e jejuno proximal), associado ao estímulo alimentar mais efetivo ao intestino distal, tem mostrado resultados consistentes quanto à correção do diabetes e comorbidades associadas. (WILLIAMS et al., 2012)

Diferentes formas de tratamento tentam reverter o processo de instalação da hiperglicemia crônica, seja atuando na diminuição da resistência periférica à insulina, assim como da modulação de sua secreção (AGUILAR, 2011)

O presente estudo avalia os resultados da cirurgia adaptativa do trato gastrointestinal com *duodenal switch* parcial frente ao DM2, priorizando a descrição da evolução clínica e laboratorial dos pacientes no pós-operatório além da discussão dos mecanismos fisiopatológicos da cirurgia frente ao controle do DM2. O estudo também avalia o comportamento da expressão do gene p53 na mucosa intestinal após a cirurgia, visando estabelecer uma possível conexão entre o gene e o estado diabético.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Diabetes mellitus tipo 2

Dados obtidos da Federação Internacional de Diabetes (IDF) indicam que o diabetes afeta pelo menos 285 milhões de pessoas no mundo e espera-se um aumento desse número para 438 milhões em meados de 2030. O número de adultos com intolerância a glicose deve aumentar de 344 milhões em 2010 para 472 milhões em 2030. (IDF, 2011) Estima-se que os custos com a doença tenham chegado a 12% do total de gastos com saúde em 2010, o equivalente a U\$376 bilhões, sendo estimado que este número aumente para U\$490 bilhões em 2030. (ZHANG et al., 2010) Os dados mostram que a doença pode ser considerada uma pandemia e, para tanto, requer medidas imediatas de controle.

O diabetes é diagnosticado quando níveis de glicemia em jejum estão acima de 126mg/dl ou pós-sobrecarga (75 g. glicose) acima de 200 mg/dl, sendo que a intolerância à glicose é definida como níveis de glicose em jejum insuficientes para o diagnóstico de diabetes mas superiores a 110 mg/dl. (ADA, 2012) Além dos níveis glicêmicos, a dosagem dos níveis séricos de hemoglobina glicada (HbA1c) ou glicosilada (produto da reação não-enzimática entre glicose e hemoglobina) é utilizada para prever o comportamento da glicemia durante os últimos 3 meses, tempo equivalente ao tempo de meia vida das hemáceas. Seus valores são dependentes do período de exposição e concentração de glicose no sangue. Quanto pior o controle glicêmico, maior a concentração de hemoglobina glicada e maiores os riscos de complicações micro e macrovasculares do DM2. (GROSS et al., 2002)

Tabela 1 - Correlação entre os níveis séricos da HbA1C e os níveis médios de glicemia

HbA 1c	mg/dL	mmol/L
6	135	7,5
7	170	9,5
8	205	11,5
9	240	13,5
10	275	15,5
11	310	17,5
12	345	19,5

Fonte: DCCT Research Group, 1993, p. 760.

Aceitam-se os valores normais a HbA1c menores que 6,5% sendo que valores entre 5,7 e 6,4 indicam um risco elevado para o desenvolvimento de diabetes. (ADA, 2012)

É sugerido que a instalação do DM2 resulta de uma interação entre fatores genéticos associado a fatores ambientais como a dieta e o sedentarismo. Além disto, o desenvolvimento da resistência insulínica e disfunção das células beta pancreáticas são fatores determinantes do desenvolvimento de intolerância a glicose e evolutivamente a hiperglicemia. (KAHN, 2003)

A epidemia de diabetes que assola o mundo está diretamente relacionada à epidemia de obesidade e sedentarismo. O excesso de peso afeta a maioria dos adultos em muitos países desenvolvidos e seus índices estão aumentando rapidamente em países em desenvolvimento. Se esta tendência permanecer, o número de sobrepesos ($IMC > 25$ e $< 30 \text{ kg/m}^2$) que era de 1,3 bilhões em 2005 deverá chegar a 2,0 bilhões em 2030. (KELLY et al., 2008) De forma preocupante, nos Estados Unidos, 10% dos bebês já apresentam excesso de peso e mais de 20% das crianças entre 2 e 5 anos são sobrepeso, mostrando que a epidemia não é passageira. (THE DIABETES PANDEMIC, 2011) O consumo excessivo de calorias ou hiperalimentação é considerado o principal fator responsável pelo aumento da prevalência de obesidade e diabetes na população mundial. (BUCHWALD et al., 2004)

A qualidade da dieta também tem importância primordial no desenvolvimento dessas doenças. Consumo de gorduras e carboidratos apresentam correlação com a gênese do distúrbio, independente do índice de massa corpórea (IMC) ou outros fatores de risco (HU et al., 2001), ao passo que uma dieta rica em fibras e cereais diminuem de forma significativa o risco de desenvolvimento de diabetes. (MUNTER et al., 2007)

O excesso de peso e conseqüente acúmulo de tecido adiposo resistente à insulina favorecem a gênese do diabetes, contudo, a relação entre obesidade e diabetes não é sempre encontrada já que 10% dos pacientes com DM2 são magros e $\frac{3}{4}$ dos pacientes obesos mórbidos não são diabéticos. (BUCHWALD; OIEN, 2009) A distribuição e o volume da gordura corporal estão associados à resistência à insulina, sendo a obesidade visceral ou central a forma mais danosa (KAHN et al., 2003; DESPRES et al., 2006; WANG et al., 2005)

Vários fatores influenciam os níveis da glicemia sérica (Figura 1), sendo que DeFronzo classifica como os fatores determinantes da gênese do DM2, a resistência à insulina no tecido hepático e muscular, associado à insuficiência das células beta pancreáticas. (DEFRONZO, 1988) No metabolismo normal da glicose, a oscilação nos seus níveis durante o dia é pequena, variando de acordo com a secreção de hormônios endógenos, principalmente a insulina e glucagon. A insulina é secretada em resposta as alterações dos níveis de glicose no sangue, sendo também modulada por outros fatores como nutrientes ingeridos, estímulos nervosos das ilhotas pancreáticas e hormônios incretínicos secretados pelo intestino delgado. A eficiência do hormônio insulina, definida como sensibilidade a sua utilização, e sua correta

liberação pelas células beta pancreática são fundamentais para um estado de euglicemia. (MATVEYENKO et al., 2008)

Pode-se avaliar a capacidade secretória de insulina pelo pâncreas de forma indireta, através da dosagem do peptídeo C no plasma. O peptídeo é secretado de forma equimolar com a insulina, ambos originados da clivagem da molécula pró-insulina. Utiliza-se o valor de corte para o peptídeo C sérico em jejum de 0,9 ng/mL como diferencial entre pacientes com DM2 ou deficiência intrínseca das células beta em secretar insulina (Diabetes tipo 1). (GROSS et al., 2002)

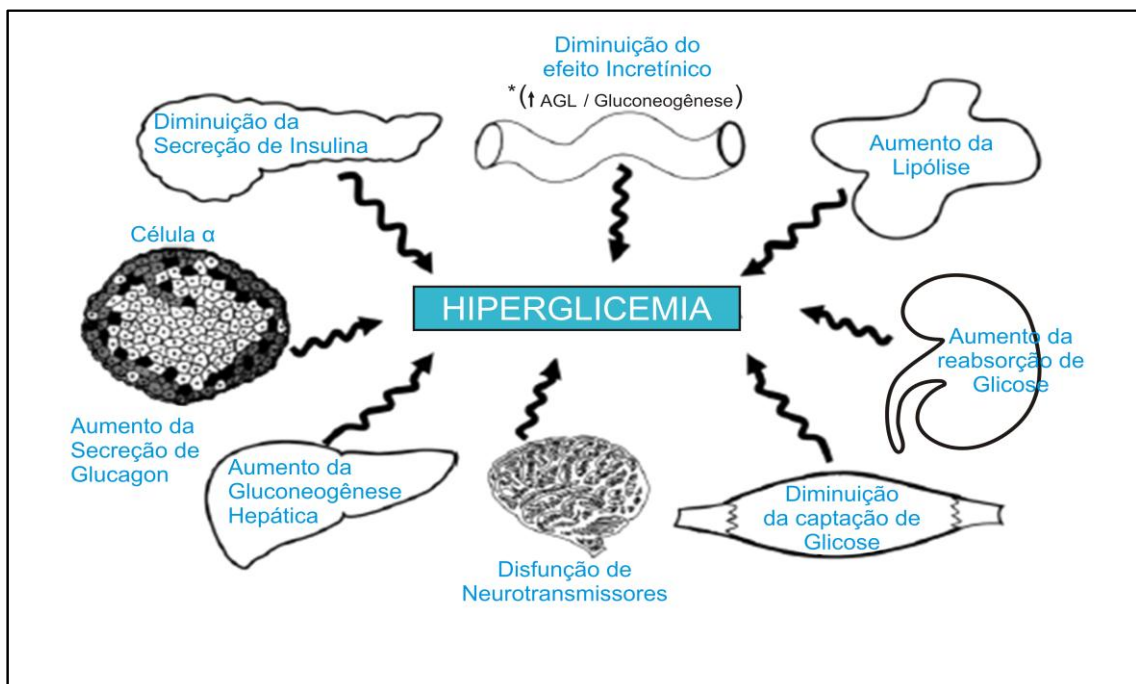


Figura 1 - Fatores relacionados ao desenvolvimento de hiperglicemia crônica

Fonte: Adaptado de DeFronzo, 2009, p. 782.

Nota: *Khosrow 2008/ Zitoun; Mithieux; Bady, 2004.

O DM2 se inicia com um aumento da resistência à utilização da glicose por diferentes tecidos. Neste estado, a sua utilização permanece normal graças ao aumento da secreção insulínica como mecanismo compensatório das células beta pancreáticas. A hiperinsulinemia compensatória é efetiva até níveis glicêmicos de 140 mg/dl. Níveis superiores são acompanhados de progressivo declínio da insulinemia sérica, promovendo a intolerância à glicose e DM2. (DEFRONZO et al., 2009)

Essa insuficiência das células beta em promover o estado de hiperinsulinemia suficiente para manter níveis glicêmicos normais está relacionada a uma progressiva diminuição em seu número ou massa celular no tecido pancreático, evento este que precede a

instalação relativamente abrupta do diabetes. (MATVEYENKO et al., 2008) Antes do desenvolvimento da intolerância à glicose ou hiperglicemia, mecanismos compensatórios aumentam a massa de células beta pancreáticas. (BUTLER et al., 2003)

Pacientes obesos não diabéticos, caracteristicamente resistentes à insulina, possuem um aumento na massa celular pancreática de aproximadamente 50%. O incremento celular é provocado por um aumento da formação de novas ilhotas, como mecanismo compensatório visando ao aumento da produção de insulina, compensando assim a resistência ao seu uso. Já em indivíduos obesos com intolerância à glicose, uma diminuição de aproximadamente 50% da quantidade de células beta por área fracionada é evidenciada, quando comparados com obesos não diabéticos. A diminuição da massa celular é induzida por um aumento da apoptose, sem efeito compensatório na estimulação a formação de novas células. (BUTLER et al., 2003; MARCHETTI et al., 2004) Nos casos em que já houve a evolução de intolerância à glicose para o diabetes propriamente dito, a perda de massa celular chega a 80% do volume total. (MATVEYENKO et al., 2008; DEFRONZO, 2009) A regulação da massa de células beta parece envolver um balanço entre a replicação celular e apoptose. (BUTLER et al., 2003)

O mecanismo exato de promoção da falência celular beta por diminuição de sua população no pâncreas não é completamente conhecido, mas reconhece-se que o aumento da demanda de insulina em estados de resistência ao seu uso potencializam os sinais de insuficiência secretória pancreática. (DEFRONZO, 2004) As células beta pancreáticas perdem potencial secretório por diferentes fatores. O tempo de vida é um fator bem conhecido de insuficiência celular beta, e está de acordo com a maior incidência de diabetes com o avançar da idade. (WANG et al., 1988) A exposição das células beta a altos níveis de glicose, transitórios ou não, induzem a morte celular e progressão para o DM2. (DONATH et al., 1999) Dietas ricas em carboidratos de fácil absorção, com alto índice glicêmico, presente em abundância na dieta humana moderna, tornam frequentes os picos hiperglicêmicos pós prandiais. (DONATH et al., 1999; VILLEGAS et al., 2000; KAHN et al., 2003)

O dano gerado pela hiperglicemia às células beta é promovido em três fases distintas: a dessensibilização celular após exposição a picos de glicemia, protegendo a célula da exaustão secretória. O estado de depleção completa grânulos contendo insulina na célula beta ou exaustão é a segunda fase de disfunção celular. A terceira fase se refere aos efeitos tóxicos da hiperglicemia crônica que, de forma geral, leva à morte celular e diminuição de sua massa no tecido pancreático. (DONATH et al., 2004)

O mecanismo fisiológico da glucotoxicidade tem sido proposto como sendo vinculado à geração de stress oxidativo. (POITOUT et al., 2002; KAJIMOTO et al., 2004) A formação

de espécies reativas de oxigênio (ERO) como o superóxido, peróxido de hidrogênio (H₂O₂), óxido nítrico (NO) e radicais hidroxila (OH[•]), associado a uma baixa concentração de enzimas antioxidantes como a cobre zinco superóxido dismutase (CuZn-SOD), manganês superóxido dismutase (Mn-SOD), catalase e glutatona peroxidase (GPx) na célula beta protagonizam o dano celular pelos altos níveis de glicose. (ROBERSON et al., 2003; KAJIMOTO et al. 2004; TSUKAHARA et al., 2007)

Além do dano gerado às células beta induzindo apoptose, o stress oxidativo, associado a fatores inflamatórios, correlaciona-se positivamente com a resistência à insulina em diferentes tecidos. (ROBERTS et al., 2010)

Em pacientes com predisposição ao desenvolvimento do diabetes, apesar dos níveis de glicemia em jejum estarem normais, os níveis pós-prandiais já alcançam níveis tóxicos à célula beta que, após exposições continuadas, geram dano irreversível celular e instalação da hiperglicemia crônica. O controle da glicemia em pacientes DM2 promove, portanto, não somente a diminuição de lesões microvasculares em diferentes tecidos como também a interrupção da glucotoxicidade. (ROBERSON et al., 2003)

O termo lipotoxicidade, ou seja, a disfunção das células beta em estados de resistência à insulina associado a altos níveis séricos de ácidos graxos livres (AGL) tem sido descrito como outro importante fator na evolução do DM2. Seu efeito tóxico somente é proporcionado em situações de altos níveis glicêmicos, tornando o termo glucolipotoxicidade mais adequado. (POITOUT et al., 2002) Células gordurosas, resistentes ao efeito antilipolítico da insulina tendem a elevar os níveis de ácidos graxos na circulação levando à formação de um ciclo vicioso que, em última instância, potencializa a insuficiência insulínica nos diabéticos. (DEFRONZO, 2004)

Os níveis séricos de glicose regulam a secreção de insulina pancreática. A injeção de glicose por via endovenosa provoca a liberação de insulina pelo pâncreas ao passo que a ingestão via oral de glicose, alcançando níveis glicêmicos equivalentes a sua injeção endovenosa, provoca um aumento 2 a 3 vezes maior na insulinemia sérica. Esse efeito estimulador da secreção de insulina promovido pela absorção de glicose no intestino é denominado "efeito incretínico". O fenômeno é mediado por dois principais hormônios intestinais (entero-hormônios): o *glucagon-like peptide 1* (GLP-1) e o *glucose-dependent insulinotropic polypeptide* (GIP). (CREUTZFELDT et al., 1992) GLP-1 e GIP são responsáveis por aproximadamente 90% da secreção de insulina provocada por estímulos incretínicos intestinais. Estes dados ganham maior importância já que, no diabetes, existe uma deficiência de secreção de GLP-1 (VILSBOLL et al., 2001) associado à resistência à ação do

GIP. (THEODORAKIS et al., 2004) Devido ao fato da deficiência de GLP-1 ocorrer precocemente no desenvolvimento do diabetes, terapias de reposição de GLP-1 ou potencialização do seu efeito se tornam cada vez mais atrativas. (DEFRONZO, 2009)

A última geração de tratamento medicamentoso para DM2 se baseia no efeito incretínico dos entero-hormônios para promover a euglicemia. Dentre os medicamentos baseados no efeito incretínico destacam-se os agonistas dos receptores de GLP-1 (exenatide, liraglutide) e os inibidores da ação da enzima *dipeptidil peptidase-IV* (DPP-IV) (vilaglutina, sitagliptina, saxagliptina), responsável pela degradação endógena tanto do GLP-1 quanto do GIP. Os análogos do GLP-1 melhoram a função da célula beta (aumentam sua massa) e mantêm de forma sustentada o controle glicêmico. Possuem ainda capacidade de diminuir a gluconeogênese hepática, diminuir a secreção de glucagon pela célula alfa além de exercer efeitos proliferativos e anti-apoptóticos na célula beta. (DRUKER, 2011)

O fármaco atua no cérebro, diminuindo o apetite com conseqüente perda de peso. Os inibidores da enzima DPP-4 reduzem a concentração de glicose sérica pós-prandial enquanto mantêm a resposta insulínica, sugerindo um efeito positivo na célula beta. No entanto, não conseguem suprimir o apetite ou promover perda de peso. (DRUKER, 2011) Sugere-se que estes tratamentos podem exercer um papel modificador da evolução do DM2. (BUNCK et al., 2011)

1.2 Entero-Hormônios Incretínicos

O trato digestivo funciona como um sistema ativo no controle do metabolismo corporal através da secreção de mais de 20 peptídeos diferentes. (REHFELD et al., 2004) São secretados a partir de células entero-endócrinas situadas nos vilos intestinais, cujos produtos influenciam mecanismos de absorção e sinalização intestinal.

Dentre os principais entero-hormônios secretados, podemos destacar a gastrina, neurotensina, colecistocinina (CCK), peptídeo YY (PYY), oxintomodulina, GLP-1 e *glucagon-like peptide-2* (GLP-2) (KIEFFER et al., 2004) A integração do tubo digestivo com o pâncreas e o hipotálamo torna-o capaz de influenciar de forma contundente estímulos de fome e saciedade, além de alterar a secreção e efetividade de hormônios circulantes como a insulina. (MORTON et al., 2006)

Considera-se que o GIP e GLP-1 são responsáveis pelo efeito incretínico entero-hormonal no organismo. Do montante total de insulina secretada pelo pâncreas, 70% é estimulada pelo efeito incretínico dos dois hormônios. (GROMADA et al., 1998) O GLP-1 é uma proteína formada 30 aminoácidos e é produzida e secretada pelas células L intestinais a partir da fragmentação da molécula de proglucagon. O proglucagon é expresso em diferentes tecidos como o sistema nervoso, pâncreas e intestino. A molécula não clivada contém a sequência de diferentes hormônios como o glucagon, oxintomodulina, GLP-1 e GLP-2. A clivagem pós-traducional é realizada por enzimas tecido-específicas que vão determinar qual enzima ativa será gerada (Figura 2)

No pâncreas, a enzima PC2 (PCSK2) quebra a molécula para gerar glucagon, ao passo que, no intestino, a enzima PC1/3 produz as moléculas ativas GLP-1, GLP-2 e oxintomodulina. O processamento do proglucagon no tronco cerebral parece gerar moléculas semelhantes às produzidas no intestino. (HOLST, 2007)

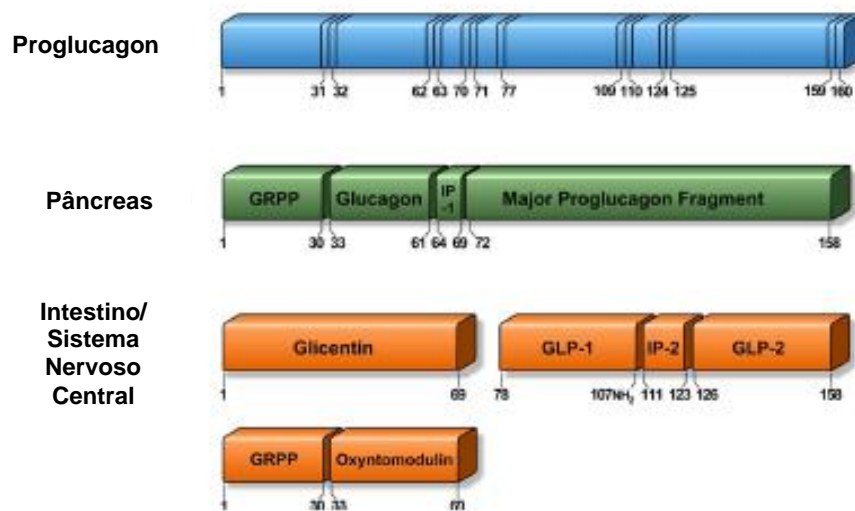


Figura 2 - Molécula de proglucagon

Fonte: Adaptado de Holst 2007, p. 1410.

A densidade de células L se torna maior em porções mais distais do intestino delgado. Contudo, assim como as células K (produtoras de GIP), podem ser encontradas também no duodeno. (THEODORAKIS et al., 2006) A resposta das células L na produção de GLP-1 é maior quanto maior for o volume de substrato ingerido. Em humanos, a glicose pode ser detectada no duodeno em 5 minutos após sua ingestão, correspondendo com o tempo que leva para obter a primeira fase rápida de elevação da concentração de GIP e GLP-1. (ENÇ et al., 2001) Proteínas estimulam de forma fraca a secreção de GIP e GLP-1 ao passo que os

carboidratos e as gorduras têm um potencial maior de estimulação. (PARKER et al., 2010) Após sua secreção, o GLP-1 é rapidamente degradado pela enzima DPP-4 produzida na borda em escova dos vilos intestinais. Cliva e retira o terminal NH₂ da molécula tornando-a inativa. (HOLST, 2007)

Somente 15% do GLP-1 sérico encontra-se em sua forma ativa. Kits para detecção do GLP-1 que têm como alvo o terminal amidado COOH têm um valor importante, pois determinam não somente a concentração da molécula ativa com terminal NH₂ intacto, não metabolizado pela enzima DPP-4, mas também as moléculas inativas. O terminal amidado COOH é comum às moléculas ativas e inativas. (HANSEN et al., 2000; HOLST; 2007)

Uma das funções mais importantes do GLP-1 se refere a sua atuação na célula beta, aumentando a exocitose de grânulos contendo insulina. O processo se inicia com a ativação da adenilato ciclase, aumentando os níveis do mensageiro celular adenosina monofosfato cíclico (AMPC), estimulando assim a secreção de insulina e diminuindo a secreção de glucagon. (KAZAKOS, 2011) Além do efeito secretório, o hormônio estimula vias metabólicas proliferativas e protege as células beta da apoptose, expandindo sua massa celular no tecido pancreático. (FARILLA et al., 2003). O GLP-1 também age na motilidade gastrointestinal, inibindo o esvaziamento gástrico e sua capacidade secretória (ex. gastrina). Esse efeito é mediado através de estímulos indiretos vagais. (YOUNG et al., 1996; IMERYÜZ et al., 1997).

A observação de que somente 15% do GLP-1 secretado pelas células L alcançam a circulação em sua forma ativa, fortalece a hipótese de que sua ação pode ser mediada principalmente através de vias nervosas que de forma simplificada comunica os terminais nervosos da lâmina própria intestinal com o hipotálamo. (HOLST, 2007)

O GLP-1 exerce ainda um efeito de regulação do apetite e ingestão alimentar através do estímulo de receptores específicos no núcleo arqueado e outras regiões hipotalâmicas. (TURTON et al., 1996). Receptores de GLP-1 são expressos em vários tecidos como pulmonar, renal, gástrico e cardíaco assim como, no sistema nervoso central, grandes vasos (veia porta) e neurônios vagais. O gânglio nodoso, que contém fibras nervosas eferentes para o trato digestivo, expressa receptores de GLP-1, GLP-2 e GIP podendo alterar sua atividade elétrica com a estimulação destes hormônios (Figura 3)

Assim como a colecistocinina (CCK), o efeito do GLP-1 parece ser desencadeado principalmente pela estimulação de fibras nervosas em proximidade com o local onde é produzido. (PARKER et al., 2010) O GLP-1 exerce importante efeito ao nível gástrico, diminuindo sua motilidade e velocidade de esvaziamento, atenuando os níveis glicêmicos

regulados pela absorção de substratos nas porções iniciais do intestino. O efeito imediato é uma diminuição da glicemia pós-prandial assim como nos níveis de insulina. Tem sido proposto que o efeito do GLP-1 no esvaziamento gástrico pode ser mais importante que seu efeito incretínico no controle da glicemia, já que a modulação negativa do contato do alimento com o epitélio absorptivo exerce forte influência na glicemia sérica. (NAUCK et al.,1997; MEIER et al., 2005).

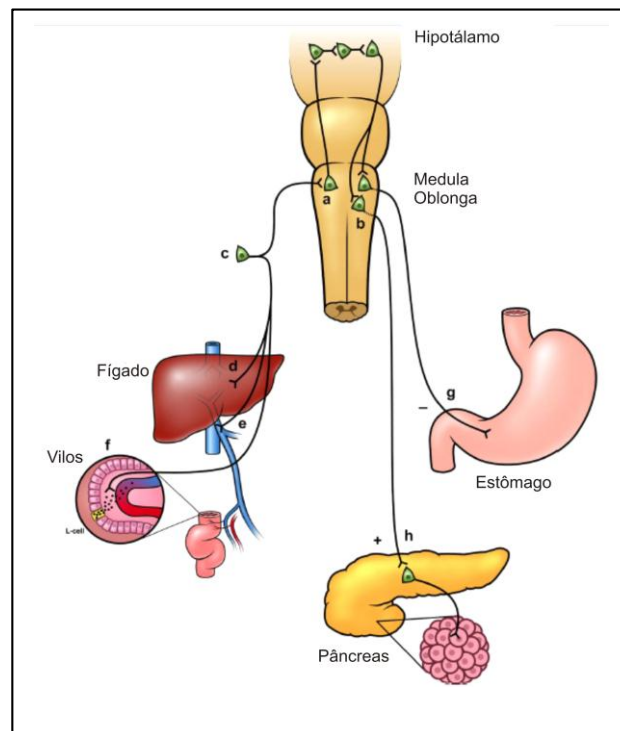


Figura 3 - Vias neurais de estimulação do GLP-1

Fonte: Adaptado de Holst, 2007, p. 1.423.

Nota: Legendas- a) núcleo do trato solitário; b), g), h) neurônios motores vagais; c) gânglio nodoso; d), e), f) neurônios aferentes sensoriais.

Nos diabéticos, existe uma diminuição da secreção de GLP-1, sendo que o efeito incretínico do GIP está suprimido. As evidências até o momento sugerem que essas alterações na secreção e ação de hormônios incretínicos são mais uma consequência e não uma causa do diabetes. (VILSBOLL et al., 2001)

O GIP (*gastric inhibitory polypeptide*) foi o primeiro hormônio incretínico a ser descoberto sendo descrito pela primeira vez como estimulante à secreção insulínica em 1973. (DUPRE et al., 1973 apud HOLST, 2001) Recebeu esse nome devido a sua ação de inibir a secreção gástrica em cães. Contudo, seu principal efeito é o estímulo à secreção de insulina ao nível das células beta pancreáticas sendo, portanto, renomeado para *glucose-dependent insulinotropic polypeptide*. (BAGGIO et al., 2007)

É secretado pelas células K do intestino delgado, localizadas principalmente em suas porções proximais e em menores proporções no resto do intestino delgado. (MORTENSEN et al., 2003) A molécula ativa do GIP é dependente da ação pós-traducional da enzima PC1/3 na molécula proGIP. As células K são estimuladas em resposta ao contato do alimento e principalmente reguladas pelo ritmo de absorção dos substratos glicose e em maior intensidade gorduras. (MIYAWAKI et al., 2002).

Moléculas de fácil absorção como carboidratos refinados tendem a estimular de forma proeminente a secreção do GIP. (WACHTERS-HAGEDOORN et al., 2006). Sua secreção está diminuída em situações que levam à redução absorptiva do epitélio apesar de haver contato do alimento com a célula K. O hormônio, metabolizado pela enzima DPP4, tem tempo de meia-vida de aproximadamente 7 minutos em indivíduos saudáveis e 5 minutos em indivíduos DM2. Seu *clearance*, assim como o GLP-1, é realizado principalmente por excreção renal. O GIP tem efeito estimulatório na secreção insulínica no pâncreas e, além disso, exerce efeitos em outros tecidos como o ósseo, aumentando a sua formação e, no tecido gorduroso, aumentando a lipogênese. (BAGGIO et al., 2007)

A capacidade do hormônio GIP em aumentar a deposição lipídica tem sido descrita como importante efeito obesogênico. Sua relação com a hiperalimentação e a obesidade tem sido defendida através de estudos com ratos *knock out* para receptor de GIP, que apresentam significativa diminuição do acúmulo gorduroso. (MIYAWAKI et al., 2002).

O efeito do GIP é menor em relação ao GLP-1 sob níveis normais de glicose, contudo, seus efeitos se somam após uma refeição, sugerindo que atuam em receptores diferentes. Em estudo envolvendo diabéticos e pacientes hígdios, a infusão de GIP endovenoso não obteve efeito insulínico em níveis basais de glicose, indicando que sua ação é modulada pelo incremento dos níveis glicêmicos promovido pela absorção intestinal. Já o efeito do GLP-1 foi evidenciado nas duas situações. Além disso, no DM2, o GIP não apresentou efeito incretínico, sendo que a inibição dos seus efeitos tem seus motivos ainda pouco compreendidos. (ELAHI et al., 1994) O evento pode estar relacionado à regulação para baixo de receptores para GIP ao nível pancreático em estados de hiperglicemia. (MATVEYENKO et al., 2009; LYNN et al., 2001)

Theodorakis *et al.* (2004) avaliou o comportamento do GIP em pacientes diabéticos, intolerantes à glicose (IGT) e sadios. Em jejum, os níveis de GIP foram significativamente maiores em IGT seguido de diabéticos. Em resposta à sobrecarga de glicose, picos maiores foram encontrados em pacientes IGT que nos dois outros grupos. O estudo sugere que, nos diabéticos, ocorreu uma diminuição da sensibilidade das células K à glicose intestinal e, além

disso, após períodos prolongados de níveis séricos de GIP elevados, ocorreu perda da sensibilidade de receptores de GIP no pâncreas. (THEODORAKIS et al., 2004) Os elevados níveis de GIP no DM2, contrapondo-se aos baixos níveis de insulina, fortalecem o papel da resistência dos receptores de GIP pancreáticos em estados de hiperglicemia. Hojberg (2009) e comprovam, em estudo com ratos, que o controle da glicemia restaura a capacidade incretínica do GIP através da modulação da expressão de receptores pancreáticos.

Em condições normais, tanto o GIP quanto o GLP-1 apresentam efeitos incretínicos comparáveis, contudo a quantidade pós-prandial de GIP liberado na circulação é bastante superior. (VILSBOLL et al., 2003)

1.3 Epitélio intestinal no diabetes

A mucosa intestinal é uma importante interface entre o homem e seu meio, principalmente no que concerne à utilização de alimentos para obtenção de energia, absorção de água, aquisição de compostos bioativos, proteção contra agentes infecciosos e toxinas. (MATHERS et al., 1998)

A manutenção do epitélio intestinal depende de uma organização complexa entre a proliferação celular críptica, maturação e migração dos enterócitos com posterior morte celular programada no topo dos vilos. (GODLEWSKI et al., 2007) Sua organização arquitetural é bem definida, sendo que o revestimento mucoso apresenta dobras que proporcionam um aumento de sua superfície absorptiva, e a recobrando, milhões de invaginações em forma de garrafa, conhecidas como criptas de Lieberkühn, repleta de células indiferenciadas, continuamente suprem a demanda celular dos vilos intestinais.

Os vilos intestinais são projeções em forma de dedos para dentro do lumen intestinal (Figura 4).

A digestão dos açúcares para posterior absorção é realizada na borda em escova dos vilos em sua porção apical. Esta região é rica em enzimas como a sucrase, maltase e lactase sendo que a absorção de açúcares ocorre principalmente nas porções iniciais do trato digestivo. (GANONG, 1999; LEVIN, 1994)



Figura 4 - Vilos de mucosa ileal sob magnificação de imagem endoscópica (100X)
 Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador, 2012.

O intestino contém uma das maiores quantidades de células tronco no corpo. As células intestinais delas geradas, migram das criptas para os vilos e concomitantemente se diferenciam em 3 diferentes linhagens: células secretoras de mucina ou *goblet cells*, enterócitos absorptivos e células enteroendócrinas secretoras de peptídeos hormonais (Figura 5) (KIEFFER, 2004)

Em humanos, o tempo de *turnover* celular é de aproximadamente de 3 a 5 dias (KIEFFER, 2004) e, para manutenção do epitélio, a quantidade de células que são geradas ou submetidas à apoptose nas criptas deve corresponder ao volume celular em processo de apoptose no topo dos vilos (HALL et al., 1994)

O ritmo de proliferação das células intestinais sofre influência de diferentes hormônios como a insulina, tiroxina e hormônio do crescimento (GH). Além disto, a presença de alimento e sua quantidade ingerida influenciam o crescimento epitelial, tanto por ação direta como pelo estímulo a secreção de hormônios gastrointestinais que exercem importante papel na manutenção do epitélio. (JOHNSON, 1988) Os entero-hormônios funcionam como mensageiros químicos e são secretados pelas células intestinais após mecanismos de detecção da composição, densidade e volume dos nutrientes. Através de vias neurohormonais, alteram a motilidade intestinal (Ex: velocidade do esvaziamento gástrico) e o crescimento epitelial, modulando assim o ritmo de absorção da mucosa. (ENÇ et al., 2001) O contato dos substratos com as células enteroendócrinas promove a secreção dos enterohormônios sendo que suas ações podem ser locais (autócrinas), através de estímulo ao sistema nervoso intrínseco do

órgão (neurócrina) ou a distância, através da circulação sanguínea (parácrina). (HOLST; 2007)

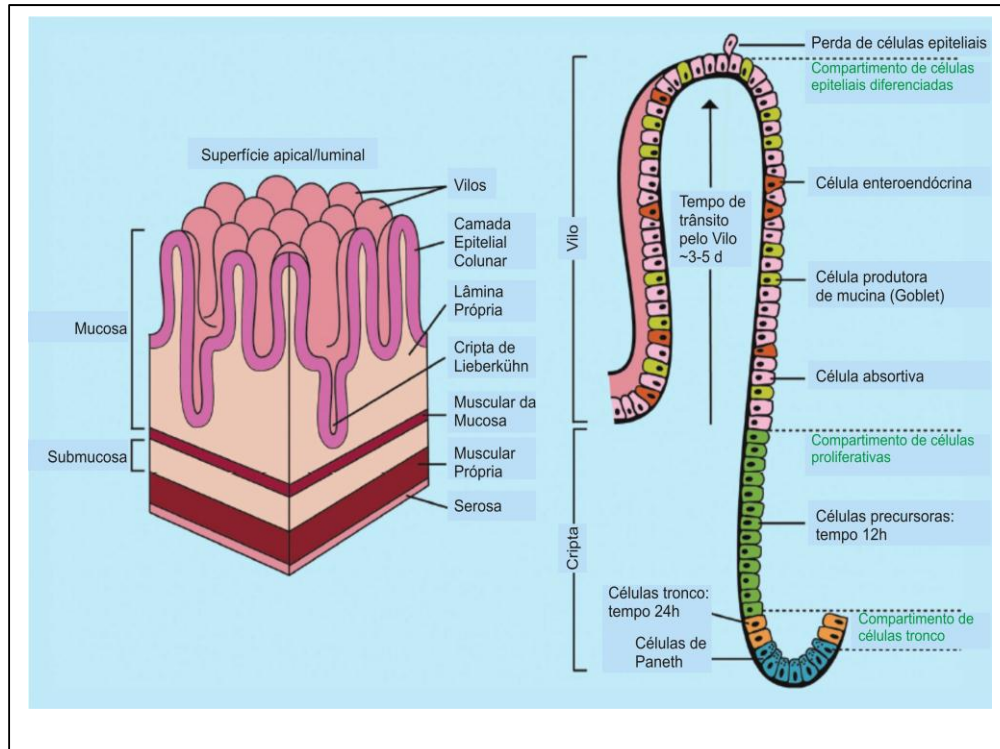


Figura 5 - Arquitetura do epitélio intestinal mostrando vilos e criptas

Fonte: Kieffer, 2004, p.58.

Dentre os principais entero-hormônios com ação trófica na mucosa intestinal, podemos destacar a gastrina, grelina, colecistocinina (CCK), peptídeo inibidor gástrico ou insulino-trópico dependente de insulina (GIP), secretina, bombesina, e o *glucagon-like peptide-2* (GLP-2). (THOMAS, 2003) O GLP-2 tem mostrado ter um grande efeito trófico no intestino. Secretado pelas células L intestinais, estimula a proliferação celular na mucosa sendo que estudos em ratos tratados com GLP-2 mostram que seus vilos intestinais apresentam maior alongamento, menor taxa de apoptose e maior proliferação celular críptica. (LITVAK et al., 1998)

Dentre os mecanismos que influenciam o trofismo gastrointestinal, os fatores luminiais como nutrientes e secreções digestivas, são sem dúvida os principais estimuladores do seu crescimento. (DAHLY et al., 2003)

Diferentes estudos mostram haver correlação direta entre a quantidade de glicose ingerida (WESER et al., 1982) ou o consumo de dietas ricas em poliaminas (LÖSER, 1999) e o crescimento epitelial intestinal. Ao contrário, o jejum pode diminuir o número de células

mitóticas ao nível das criptas, evento que é revertido após reintrodução da dieta. (MATHERS; 1998) Camundongos em nutrição parenteral total, submetidos à dieta enteral rica em carboidratos apresentam uma massa intestinal até 35% maior que ratos submetidos à dieta livre de açúcares, sendo que a hipertrofia ocorre nos segmentos mais proximais do intestino, mostrando um importante papel trófico dos carboidratos, já que sua maior absorção ocorre nesse segmento (WESER et al., 1982; GANONG, 1999) Ratos submetidos a dietas pobre em poliaminas apresentam massa intestinal menor que ratos controle com dieta regular. (LÖSER et al., 1999) As principais poliaminas são denominadas putriscina, espermidina e espermina. São polications com a característica de interagir com moléculas carregadas negativamente como DNA, RNA e proteínas. Estão envolvidas em funções como crescimento e proliferação celular. São obtidas por três principais vias: ingestão alimentar, síntese celular e síntese microbiana na luz intestinal. (MINOIS et al., 2011)

Há várias décadas, diferentes estudos também têm mostrado que, durante a evolução do DM2, ocorrem alterações morfofuncionais no epitélio intestinal que, em última instância, aumentam de forma contundente sua superfície e capacidade absorptivas. (JERVIS et al., 1966; MILLER et al., 1977; SCHEDL et al., 1971)

Outros estudos mostram que esta capacidade absorptiva aumentada evita a chegada do alimento ao intestino distal e, além disto, picos hiperglicêmicos pós-prandiais promovidos pelo epitélio hiperabsorptivo podem prejudicar as células beta pancreáticas (SCHIRRA et al., 1996; DONATH et al., 2004) Esses dados sugerem que a hipertrofia intestinal possa ter uma relação direta com a patofisiologia do DM2. Os reais mecanismos envolvidos no processo da hipertrofia intestinal ainda não são bem conhecidos sendo que alguns autores tendem a relacionar a hiperfagia associada à inibição temporária da apoptose celular como fatores determinantes. (NODA et al., 2001)

A maioria dos estudos avaliando a hipertrofia intestinal e o diabetes foi realizada em modelos animais com indução do diabetes através da administração de drogas tóxicas às células beta pancreáticas na cavidade peritoneal (aloxano, streptozotocina). (SCHEDL et al., 1988) O modelo gera um estado de hipoinsulinemia e animais hiperfágicos com baixo peso em relação aos seus controles. Apesar de mais leves, o abdome desses animais é desproporcionalmente maior em relação ao resto do corpo. Esta disparidade se justifica já que o peso seco do intestino chega a ser 50% maior que de seus controles. O peso corporal dos animais diabéticos representa a metade do encontrado em seus pares controle. Portanto, a proporção entre peso corporal e intestinal é ainda é mais marcante. O crescimento intestinal é maior nos segmentos mais proximais do intestino delgado e mais relacionado a sua mucosa.

(SCHEDL et al., 1971) A taxa de proliferação celular na mucosa do intestino delgado desses animais chega a ser até 2 vezes maior que nos controles. Este crescimento mucoso parece estar diretamente relacionado com a quantidade de alimento ingerido e parece ser independente de fatores de crescimento como o hormônio do crescimento (GH). (SCHEDL et al., 1988)

Noda et al. (2001), em estudo com ratos diabéticos hipoinsulinêmicos, sugere que a hiperfagia foi fundamental para a hipertrofia da mucosa intestinal tendo em vista que o desfecho não foi encontrado nos ratos com restrição alimentar. Neste estudo, a taxa de apoptose na mucosa intestinal foi menor uma semana após a injeção de streptozotocina, durante o desenvolvimento da hipoinsulinemia, podendo esse ser o fator determinante do aumento da espessura do epitélio.

Além da hipertrofia intestinal com aumento de sua superfície absorptiva, o intestino de ratos diabéticos também mostra uma capacidade maior de digestão de açúcares. Os carboidratos são absorvidos no intestino após sua digestão por enzimas alfa-glicosídes e dissacarídeses. (LEVIN, 1994) Sucrase e isomaltase (dissacarídeses) são enzimas localizadas na borda em escova da célula intestinal, geradas a partir da quebra do complexo sucrase-isomaltase (SI) e têm papel fundamental na digestão dos carboidratos e consequente aumento da glicemia sérica.

Visando analisar se essa capacidade enzimática aumentada está relacionada com a insulinemia sérica, Adachi et al. (2003) analisam a expressão do complexo SI em diferentes modelos experimentais de diabetes. Foram investigadas as alterações morfológicas no intestino delgado, atividades da sucrase e isomaltase, expressão do complexo SI em diferentes modelos de ratos diabéticos: *Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty* (OLETF), que apresentam obesidade e hiperinsulinemia; ratos com resistência à insulina Goto-Kakizaki (GK), ratos induzidos ao diabetes por injeção de streptozotocina intraperitoneal (hipoinsulinêmicos) (STZ), além do controle. Como resultado, através de estudo por *immunoblotting*, constatou-se que os níveis de proteína SI em ratos STZ foi significativamente maiores que nos controle (ratos Wistar), associado a um aumento significativo na espessura do epitélio intestinal (Figura 6), contudo a expressão em ratos GK e OLETF não foi significativamente diferente que nos ratos pareados pela idade. Apesar da expressão do complexo não ser aumentada, a atividade total da sucrase e isomaltase se mostrou aumentada mesmo nos ratos GK e OLETF. O aumento parece estar mais relacionado a hipertrofia intestinal com aumento proporcional do volume enzimático que pelo aumento da expressão do complexo SI. (ADACHI et al., 2003)

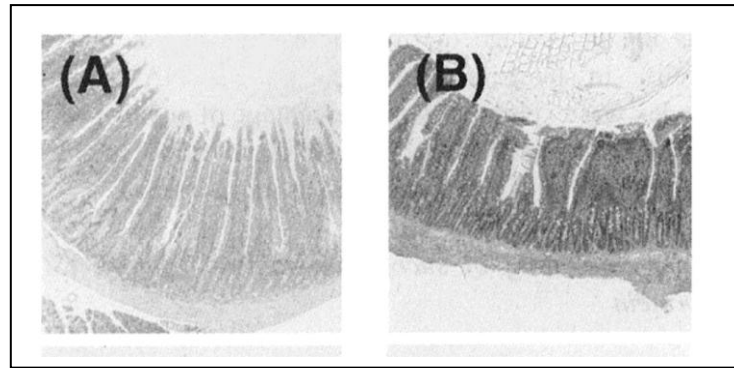


Figura 6 - (A) Epitélio intestinal hipertrofiado-rato wistar STZ; (B) rato wistar controle
 Fonte: ADACHI, 2003, p. 274.

O aumento da expressão do complexo SI é somente identificado em ratos com deficiência de insulina sendo sugerido que a insulina tem um efeito supressivo na expressão de complexo SI. Os ratos OLETF têm como característica o desenvolvimento de DM2 tardiamente durante seu crescimento (hiperglicemia, resistência à insulina, hiperinsulinemia). (KAWANO et al., 1992).

Utilizando também este modelo experimental genético não hipoinsulinêmico, Fujita et al. (1998) avaliaram se o aumento da absorção de glicose pela mucosa intestinal poderia ser um fator preponderante da hiperglicemia pós-prandial na evolução do diabetes. Nesse modelo animal, após 8 semanas de vida, os ratos OLETF são normoglicêmicos em jejum, mas já apresentam hiperglicemia pós-prandial. O DM2 geralmente se instala após 18 semanas. Após 40 semanas, percebe-se uma diminuição importante da massa de células beta pancreáticas nessa linhagem de ratos, quando se evidencia a hipoinsulinemia e perda de peso. O grupo controle foi formado por ratos Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO). No estudo, após 6 semanas, o teste de tolerância à glicose (OGTT) nos ratos OLETF mostrou hiperglicemia pós-prandial significativa quando comparada ao grupo controle, mesmo tendo elevação da insulina sérica igual. Clampe hiperinsulinêmico-euglicêmico foi realizado, sendo que os resultados não mostraram diferença na resistência à insulina entre os dois grupos. Os resultados sugeriram que os ratos predispostos a desenvolver DM2 tinham uma capacidade aumentada de absorção de glicose devido à hipertrofia intestinal já constatada com 6 semanas através da medida do peso úmido intestinal. Portanto a hiperglicemia pós-prandial pelo epitélio hiperabsortivo intestinal ocorreu antes do desenvolvimento de diabetes. Diferiram ainda significativamente em relação ao colesterol sérico, podendo o resultado estar relacionado à maior massa intestinal dos animais diabéticos. (FUJITA et al., 1998)

Poucos estudos avaliaram a hipertrofia intestinal em humanos, tendo em vista a falta

de métodos de avaliação do epitélio intestinal de forma não invasiva. A dosagem sérica de citrulina pode ser uma opção para estudo em humanos. Trata-se de um aminoácido não proteico, produzido quase exclusivamente pelos enterócitos da mucosa intestinal, sendo considerado como um marcador biológico da função e massa dos enterócitos intestinais. (CRENN et al., 2008)

Em estudo recente, Verdam et al. (2011), dentre outros parâmetros, avaliaram a correlação entre os níveis plasmáticos de citrulina, produzida a partir da glutamina por células intestinais diferenciadas, em 2 grupos de pacientes obesos severos, diabéticos e normoglicêmicos. Os resultados mostraram haver correlação entre a maior massa intestinal funcional e o DM2. Os níveis de citrulina foram significativamente maiores em pacientes com níveis elevados de hemoglobina glicada. Os dados fortalecem o papel da hipertrofia intestinal na evolução do diabetes.

1.3.1 p53 e o epitélio intestinal

Diferentes vias metabólicas participam da regulação do crescimento e morte celular do epitélio intestinal, recebendo destaque neste estudo, o papel do p53 na regulação negativa do crescimento epitelial intestinal.

O gene supressor de tumor p53, presente no cromossomo 17, codifica uma proteína nuclear fosforilada com mesmo nome p53 que, dentre outras funções, age como um fator de transcrição. Interage com vários outros genes e, dessa forma, participa ativamente da manutenção da estabilidade genética celular. Seu papel foi estudado principalmente em tecidos neoplásicos. Enquanto em aproximadamente metade dos casos de câncer em humanos, a própria mutação do gene p53 leva ao acúmulo de proteínas não funcionais na célula, na outra metade podem ser encontradas anormalidades que se relacionam com a via p53 e que indiretamente comprometem sua função supressora de tumor. (VOGELSTEIN et al., 2000; LANE; 1992)

Supressores de tumor, como o p53, regulam o controle do ciclo celular, apoptose e senescência, através da regulação da síntese de DNA, expressão gênica e modulação de várias vias de sinalização celular participando de forma ativa na regulação do crescimento normal de tecidos com alta taxa de multiplicação celular. (WEBSTER et al., 1996)

A proteína p53 é ativada através de um terminal NH₂. O tempo de meia-vida do p53 é

de aproximadamente 10-15 minutos em uma variedade de células. Sua fosforilação em nível proteico promove uma maior estabilidade da molécula, além de facilitar sua atividade ligadora ao DNA. A fosforilação do p53 ocorre no sítio serina-15 e serina-20 e induz a alterações conformacionais no terminal NH₂ que dificulta a ligação da proteína Mdm2. Essa molécula se liga diretamente ao p53, formando um complexo que promove a degradação do p53 e inibe sua atividade transcripcional. (VALENTIN-VEGA et al., 2008)

É necessária a fosforilação do p53 em múltiplos sítos para sua completa ativação e é provável que o p53 será fosforilado e pós traducionalmente modificado em vários pontos em resposta a diferentes tipos de stress metabólico tendo como exemplo a hipoglicemia e o provocado pela formação de espécies reativas de oxigênio (ERO). (WISSAM et al., 2011)

Em células normais, sob níveis adequados de oxigênio, a fosforilação oxidativa mitocondrial é uma via geradora de energia altamente eficiente. Em células com alto índice de *turnover* como as tumorais, a via glicolítica se torna mais vantajosa, pela facilidade de obtenção de energia através da quebra da molécula de glicose. O p53 estimula a geração de energia através da fosforilação oxidativa. Células normais diminuem a obtenção de energia pela via glicolítica, agindo como uma barreira para a progressão da proliferação desordenada de células cancerosas, deficientes em p53. (MA et al., 2007).

Dentre os mecanismos de desfavorecimento à via glicolítica promovido pelo p53, está a diminuição da expressão de transportadores de glicose na membrana celular GLUT 1 e 4 e ainda efeito indireto na redução do GLUT3. (SCHWARTZENBERG-BAR-YOSEPH et al., 2004) Além disso, o p53 tem capacidade de influenciar a ação insulínica na célula, regulando para baixo a expressão de receptores de insulina na membrana. (WEBSTER et al., 1996)

Embora a via glicolítica gere menos energia que a fosforilação oxidativa, a glicólise é uma via muito mais rápida para manter os níveis de ATP em situações de alta demanda energética, fato que pode manter a taxa de replicação de células cancerosas. Estudos mostram que em células com a função do p53 preservada, ocorre uma manutenção da fosforilação oxidativa. Contudo a quantidade de ATP celular não varia em células *knock out* para p53, sendo que a proporção de glicose gerada a partir da glicólise aumenta bastante nas células com função do p53 comprometida, indicando um prejuízo na função de respiração mitocondrial. Em células deficientes de p53, ocorre deficiência na biogênese mitocondrial, diminuição do consumo de oxigênio e aumento da glicólise. (CHEUNG et al., 2010).

Apesar do exposto, a resposta do p53 em relação à via glicolítica parece ser dependente do tecido estudado já que sua ação pode também estimular a via glicolítica, dependente do tipo celular ou contexto estimulatório. (MADDOCKS et al., 2011)

A ação do p53 é evidenciada principalmente em tecidos com alta replicação celular, controlando a taxa de multiplicação e crescimento das células. O epitélio da mucosa intestinal tem uma taxa de *turnover* mais rápida que qualquer tecido do corpo, e sua integridade depende de um balanço entre a proliferação celular, a interrupção do crescimento celular e a apoptose. O p53 exerce um papel crítico na regulação negativa do crescimento intestinal normal. (ZHANG et al., 2007) Sua ação é evidenciada primordialmente ao nível das criptas, onde existe um grande número de células indiferenciadas em constante multiplicação visando suprir a demanda do epitélio absorptivo. (GODLEWSKI et al., 2007)

A maioria das ações do p53 é estudada no contexto das células cancerosas; contudo, o papel do p53 no envelhecimento (LANNI et al., 2012), na indução de resistência a insulina (MINAMINO et al., 2009; DERDAK et al., 2011; BURGDORF et al., 2011), na mobilização de defesas contra espécies reativas de oxigênio (GOTTLIEB et al., 2010; OLOVNIKOV et al., 2009) e no crescimento normal de tecidos com alta taxa de multiplicação celular (ZHANG et al., 2007), tem sido cada vez mais investigado. Os níveis de formação de ERO celular influenciam a expressão do gene. Sua ação pode tanto promover efeito antioxidante como pró-oxidante, neste caso, levando a célula à apoptose. (Figura 7)

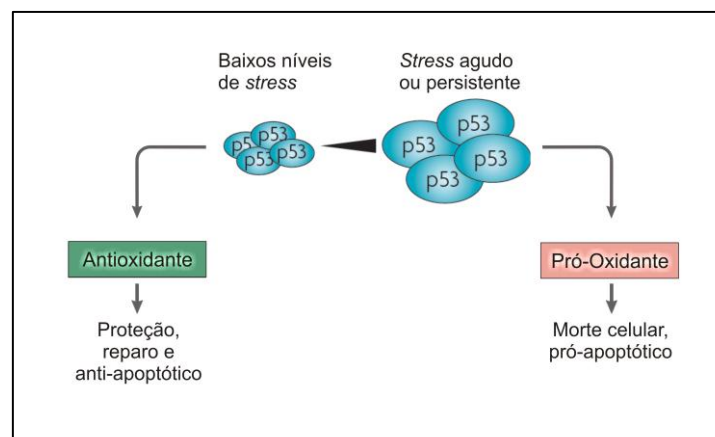


Figura 7 - p53 e stress oxidativo celular

Fonte: Adaptado de Vousden, 2009, p. 697.

No diabetes, o nível de stress oxidativo celular intestinal tende a ser elevado (BHOR et al., 2004); contudo não se tem informação dos níveis de expressão do p53 no intestino, relacionado às concentrações de ERO.

Variados modelos de estudo foram realizados para analisar o papel do p53 em diferentes situações que envolvem o epitélio intestinal. Após grandes ressecções ou derivações intestinais, o epitélio intestinal remanescente sofre diversos processos adaptativos.

Após ressecção de 50% do intestino delgado, ocorre uma adaptação morfológica do epitélio intestinal que consiste em aumento da área de superfície mucosa através de vilos mais longos, criptas mais profundas e aumento do calibre e comprimento intestinal. É descrito um aumento da taxa de corpos apoptóticos nos vilos do intestino remanescente após a ressecção indicando um maior *turnover* celular. (WAKEMAN, 2010; MCDUFFIE, 2011)

Contudo, em diferentes estudos, resultados mostram que, nesse modelo, os mecanismos adaptativos pós-ressecção são independentes da ação do p53, já que ratos *knock out* para o gene apresentam resultados semelhantes quanto a parâmetros morfológicos e de quantidade de DNA e proteínas no epitélio remanescente. (SHIN et al., 1999; LAURONEN et al., 2005) Em modelos de restrição alimentar de até 50%, ocorre diminuição da ativação do p53. Especula-se que o mecanismo seja pelo menor ritmo metabólico produzido pela restrição calórica. (HASS et al., 1993; PIPKIN et al., 1997)

Em estudo piloto (ARTONI e cols, 2009; Anexos 1 e 2), foi avaliada a expressão gênica por *microarray* de amostra de mucosa de ileo terminal, em pacientes diabéticos submetidos à cirurgia de entero-omentectomia isolada para tratar o diabetes. Consistiu na ressecção de segmento de jejuno e ileo além de omentectomia, com correção dos níveis glicêmicos no pós-operatório. Foram diferencialmente expressos 64 genes entre o período pré e pós-operatório, sendo que vários deles se relacionavam à via metabólica do p53, sugerindo haver uma correlação entre o comportamento do gene ao nível intestinal no estado diabético e não diabético.

O epitélio intestinal sofre um rápido *turnover* celular sendo altamente regulado e criticamente controlado por diferentes fatores. Evidências sugerem que a proliferação das células epiteliais intestinais ao nível das criptas seja altamente regulada pelo nível de poliaminas celulares, através da habilidade destas moléculas em modular a expressão de genes relacionados ao crescimento. (ZHANG et al., 2007)

O aumento das poliaminas celulares estimula a renovação de células epiteliais intestinais, e sua diminuição inibe a proliferação celular *in vitro* e *in vivo*. Evidências crescentes sugerem que as poliaminas positivamente regulam a transcrição de genes estimuladores da divisão celular tais como c-fos e c-myc e negativamente controlam a expressão de genes inibidores do crescimento incluindo TGFbeta/TGFbeta receptor, p53 e jun D. Assim como o p53, TGF beta é um importante regulador negativo do crescimento normal da mucosa intestinal, e administração de TGFbeta inibe a atividade proliferativa das células epiteliais intetinais, evento mediado pela ativação de proteínas Smads.(LIU et al., 2003)

A deficiência de poliaminas através de seu bloqueio pela enzima ornitina descarboxilase (ODC) suprime o crescimento mucoso. A depleção de poliaminas aumenta os níveis de mRNA e proteína p53 na mucosa intestinal *in vivo*.

Ainda, Li *et al* (2010) demonstraram que a depleção de poliaminas não teve efeito na transcrição do gene p53 mas aumentou dramaticamente o tempo de meia-vida do mRNA p53, levando à elevação dos níveis basais e à indução de sua síntese proteica. Além disso, houve diminuição dos níveis de Mdm2 mostrando que a diminuição da degradação proteica do p53 também contribuiu para o resultado. O estudo claramente mostra que as poliaminas regulam negativamente o estado pós-transcricional e não a transcrição do gene p53 em cultura de células intestinais (IEC-6). O aumento da meia vida do mRNA leva ao acúmulo do p53 mRNA, que cursa paralelamente ao aumento do p53 proteico. (LI et al., 2001). (Figura 8)

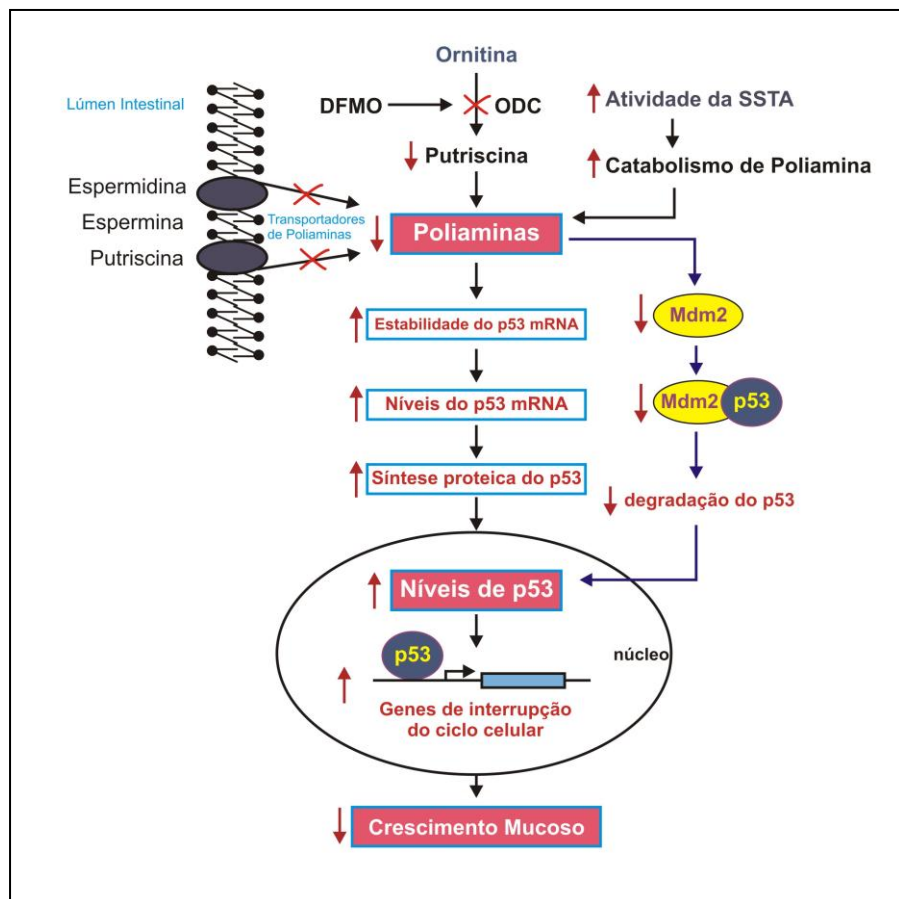


Figura 8 - Relação entre os níveis de p53, poliaminas e o crescimento mucoso intestinal

Fonte: Li *et al.*; 2001, p. C951.

Nota: Legenda - DFMO: α -difluorometilornitina; ODC: ornitina descarboxilase; SSAT: espermidina/espermina-N-acetiltransferase.

Em outro trabalho, os mesmos autores mostram que a inibição da síntese de poliaminas pela 2-difluorometil-ornitine (DFMO) aumenta a expressão do gene p53 em

cultura de células IEC-6. Houve associação entre a maior expressão do p53 e um aumento significativo de interrupção do crescimento celular na fase G1. Sugerem que o p53 tenha papel fundamental na inibição do crescimento tecidual sem aumentar, contudo, a taxa de apoptose. (LI et al., 1999).

1.4 Cirurgia bariátrica e metabólica

1.4.1 Conceitos gerais

Conforme citado, diferentes métodos e modelos experimentais mostram a importância do trato digestivo no controle do metabolismo energético corporal, seja através de sua capacidade absorptiva, seja através de secreção e sinalização hormonal.

É inegável que a importância do trato digestivo, neste escopo, foi fortalecida e bastante estudada através da observação dos resultados obtidos após cirurgias, visando ao tratamento de obesos mórbidos e denominadas bariátricas. Os procedimentos visando à perda de peso corporal, inicialmente buscavam seus resultados na modulação da absorção alimentar (disabsortivos) e posteriormente também na diminuição da ingesta alimentar (restritivos).

Em 1953, Varco, da Universidade de Minnesota, descreveu o primeiro procedimento cirúrgico desenvolvido para tratar a obesidade. (VARCO apud BAKER, 2011) Consistia em procedimento disabsortivo, uma jejunoileostomia término-terminal com ileoscecostomia para drenagem do segmento excluído. Desde então, inúmeras abordagens para tratar a obesidade têm sido propostas. A relação do trato digestivo especificamente com o metabolismo da glicose ficou evidente quando coincidentemente nessa mesma época (1955), Friedman publica a primeira descrição sugerindo a relação entre o trato digestivo e o diabetes, demonstrando a resolução do distúrbio metabólico em pacientes sem obesidade mórbida submetidos a gastrectomia. (apud FRIED et al., 2010)

Quase três décadas após, no início dos anos 80, Ackerman e Halverson relatam que pacientes diabéticos obtêm controle glicêmico imediatamente após procedimentos bariátricos disabsortivos, mesmo antes da perda de peso significativa. (ACKERMAN, 1981; HALVERSON, 1982)

Herbst, em 1984, descreve bons resultados de controle glicêmico em 23 pacientes em uso de insulina submetidos à cirurgia bariátrica. (HERBST et al., 1984)

Em 1995, Pories publica a primeira grande série de pacientes obesos e diabéticos operados relatando a resolução do quadro de diabetes tipo 2 em 89% dos pacientes com seguimento de até 14 anos. Todos submetidos à cirurgia de bypass gástrico modalidade *Greenville*, adaptação da técnica cirúrgica descrita por Mason. (PORIES, 1995)

As cirurgias bariátricas, em suas diversas técnicas, além de apresentarem resultados consistentes e duradouros quanto à perda de peso em pacientes obesos apresentam, de forma surpreendente, um grande potencial em corrigir ou melhorar o DM2. (AHN, 2010)

A melhora dos padrões metabólicos não ocorre simplesmente em consequência da perda de peso. Diferentes autores mostram que as mudanças no trato digestivo provocadas pela cirurgia influenciam de forma imediata o metabolismo energético corporal antes que ocorra a perda ponderal. (SJÖSTRÖM et al., 2004) Esses fenômenos, cada vez mais, parecem estar diretamente relacionados à secreção de entero-hormônios incretínicos e sacietógenos em porções diferentes do trato digestivo quando em contato com alimentos ingeridos, além da exclusão de segmentos intestinais do trânsito alimentar. A integração do tubo digestivo com o pâncreas e o hipotálamo torna-o capaz de influenciar de forma contundente estímulos de fome e saciedade além de alterar a secreção e efetividade de hormônios circulantes como a insulina. (MORTON et al., 2006) Esse efeito insulínico (incretínico) tem sido o foco dos procedimentos cirúrgicos gastrointestinais e não somente aceitos como consequência do tratamento da obesidade.

A descoberta desses mecanismos sinalizadores e moduladores mudou de forma importante o modo como se interpretam os procedimentos cirúrgicos que se propõem a tratar distúrbios metabólicos.

O tratamento cirúrgico de portadores de doença metabólica (obesidade, DM2, dislipidemias) associada a diferentes graus de obesidade ou sobrepeso busca seu efeito sem foco específico na restrição alimentar ou disabsorção, mas na modulação da relação entre a ingesta alimentar e o trato digestivo. (SANTORO, 2008) A expansão do foco da cirurgia bariátrica, em relação ao controle do diabetes e outros distúrbios metabólicos, faz com que o termo "cirurgia metabólica" seja cada vez mais utilizado.

1.4.2 Conceitos fisiológicos da cirurgia metabólica

Partindo de resultados prévios da cirurgia bariátrica frente ao diabetes, observa-se melhor resposta em procedimentos com maior exclusão do intestino proximal. (AHN, 2010) (Ex.: Técnica de Scopinaro, Derivação Biliopancreática (DBP) com Duodenal switch). (Figura 9)

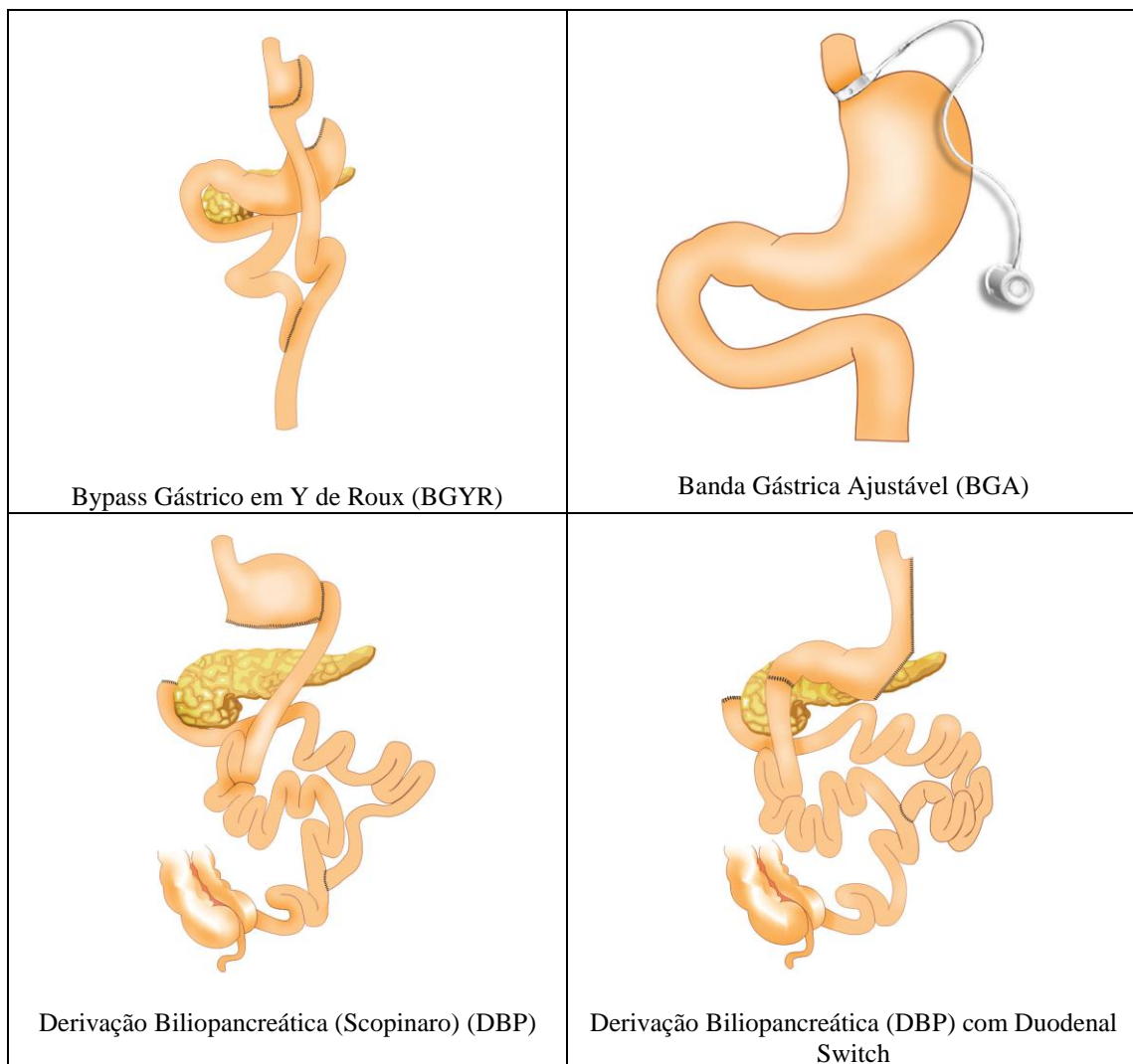


Figura 9 - Técnicas mais realizadas de cirurgia bariátrica

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador, 2012.

Diferentes teorias foram propostas para explicar os mecanismos de controle do diabetes após cirurgia gastrointestinal sendo mais discutidas a teoria do intestino anterior ou *foregut hypothesis* e a teoria do intestino posterior ou *hindgut hypothesis*. (CUMMINGS et al., 2009)

A teoria do intestino anterior relaciona a melhora do diabetes tipo 2 com a exclusão do segmento do duodeno e jejuno proximal do contato com os alimentos. Rubino et al. (2006) publicaram vários estudos em ratos diabéticos não obesos, avaliando a melhora da sensibilidade à insulina após derivação do duodeno e jejuno proximal. Comparam duas técnicas cirúrgicas experimentais, uma envolvendo a completa exclusão do duodeno e jejuno proximal com outra técnica de exclusão parcial do duodeno e fornecimento de alimento ao jejuno através de uma gastrojejuno anastomose em alça, ambas as técnicas sem componente restritivo ao nível gástrico. (RUBINO et al., 2006) (Figura 10)

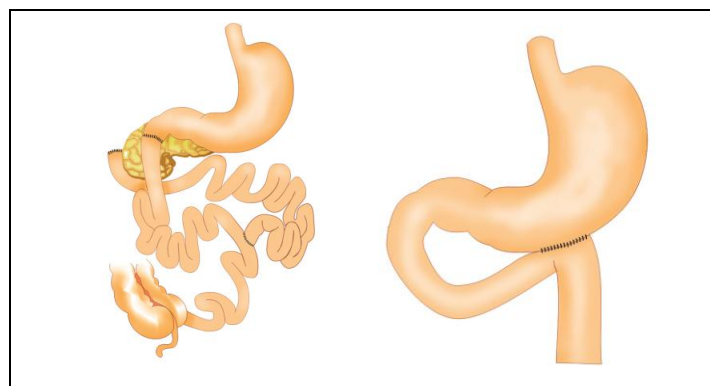


Figura 10 - Técnicas de exclusão duodenal avaliada por Rubino

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador, 2012.

O estudo favorece a teoria do intestino anterior quando mostra resultados bem melhores naqueles com duodeno completamente excluído do trânsito alimentar. Apesar dos bons resultados, ainda não se tem conhecimento do real mecanismo de controle metabólico através do método de exclusão do duodeno e jejuno proximal. É sugerido que o tamanho do segmento proximal excluído tenha fundamental importância no potencial antidiabetogênico do procedimento. (KAO et al., 2011)

Evidências sugerem que o aumento da sensibilidade ao hormônio GIP possa ser responsável pelas alterações metabólicas após a exclusão duodenal. É no duodeno que encontramos a maior concentração de células K, produtoras deste hormônio. Em pacientes com intolerância à glicose, os níveis séricos de GIP estão elevados. No DM2, a resposta das células beta e K ao estímulo da glicose está prejudicada. Especula-se que a exposição dos receptores de GIP pancreáticos a níveis elevados do hormônio por um período prolongado pode levar a resistência e perda relativa de sensibilidade das células K ao estímulo da glicose colaborando para o desenvolvimento do diabetes tipo 2. (THEODORAKIS, 2004) O comportamento dos níveis de GIP em diferentes modelos cirúrgicos foi relatado recentemente

em revisão da literatura (RAO et al., 2011) mostrando uma tendência de diminuição de seus níveis após procedimentos combinados (restritivos e disabsortivos) e estabilidade nos seus níveis após procedimentos puramente restritivos. Estudos em ratos mostram que a obesidade e diabetes diminuem a expressão de receptores de GIP ao nível das células beta pancreáticas, justificando de certa forma a resistência a sua ação incretínica. (LYNN, 2001) A reversão do estado de hiperglicemia retoma os níveis normais de expressão do receptor de GIP pancreático (PITEAU et al., 2007), sugerindo que o comportamento do hormônio incretínico no diabetes está mais relacionado aos níveis glicêmicos que com a capacidade secretória hormonal do intestino.

A teoria do intestino posterior (*hindgut hypothesis*) estipula que o controle do diabetes após a cirurgia ocorre através do fornecimento de alimentos ao intestino distal. É nessa porção onde se encontra a maior concentração de células L, responsáveis pela secreção de importantes hormônios intestinais com efeito incretínico como o GLP-1 e PYY. (VAILLANT et al., 1986; SANTORO, 2008; ELLIOTT, 1993) A teoria do intestino posterior, até o momento, tem se mostrado mais consistente tendo em vista os diferentes estudos que mostram uma melhora importante no padrão de secreção insulínica em pacientes submetidos a procedimentos cirúrgicos que colocam o intestino distal em contato com o alimento não digerido. (LE ROUX et al., 2006; MILLÉO et al., 2006) As evidências até o momento relacionam o fenômeno com o aumento da secreção de GLP-1 pelas células L. Além de melhorar a secreção insulínica, os pacientes submetidos à cirurgia metabólica, mostram diminuição da resistência à insulina além de diminuição dos níveis de stress oxidativo celular. (MONTE et al., 2012; CABRERA et al., 2010; BOESING et al., 2010)

As duas hipóteses citadas não contemplam a cirurgia na câmara gástrica, importante componente das cirurgias bariátricas ou metabólicas. A restrição alimentar promove perda de peso com conseqüente diminuição da resistência à insulina. Vários estudos têm mostrado que o estômago também tem capacidade de secretar hormônios que se tornam alvo da cirurgia. A grelina, produzida pelas células A no fundo gástrico, tem forte efeito orexígeno, sendo que seus níveis sofrem diminuição importante em procedimentos com ressecção deste segmento. (RAMÓN et al., 2012).

A gastrectomia vertical, parte da técnica de DBP com duodenal switch (Quadro 1), envolve a ressecção do fundo e parte do corpo gástrico, deixando o estômago com formato de manga, também denominada *sleeve gastrectomy* (SG), e vem ganhando cada vez mais atenção tendo em vista os bons resultados em relação à diminuição da ingesta alimentar sem promover grande restrição, já que a neocâmara gástrica fica com volume de aproximadamente 100-200

ml, dependendo da forma com que se calibra a posição da linha de grampeamento para secção intestinal. (PAPADAKIS et al., 2008) O método, além de diminuir a concentração da grelina plasmática, acelera o esvaziamento gástrico e faz com que o alimento progrida ao intestino de forma mais rápida, desta forma sim, hipoteticamente, contribuindo para o estímulo das células L intestinais do intestino distal. (AKKARI, 2008)

De fato, é defendido que o efeito incretínico do método, ou seja, a maior estimulação da secreção de GLP-1 é comparável como os obtidos através do RYGB. (RAMON et al., 2012) O efeito incretínico parece ser mediado pelo aumento da velocidade do esvaziamento gástrico, desta forma, dificultando a maior absorção do alimento em porções proximais e assim estimulando de forma mais efetiva as porções distais do intestino delgado, ricas em células L. (ROMERO et al., 2012). Os efeitos metabólicos da SG parecem ser mais duradouros com menor reganho de peso a médio prazo, quanto menor for a neocâmara gástrica, dependendo de como é feita a calibragem da linha de grampeamento, já que utilizando essa técnica de forma isolada, os pacientes podem apresentar com maior frequência reganho de peso. (WEINER et al., 2007) Em estudo de revisão de 27 trabalhos, relatando o uso da técnica de forma isolada, observou-se uma taxa de remissão do quadro de DM2 de aproximadamente 66% dos pacientes. (RICHDEEP et al., 2010) A resolução do DM2 é superior em procedimentos combinados, contudo a SG isolada parece ter seu papel no tratamento da doença.

1.4.3 Efeito metabólico das técnicas cirúrgicas

Dentre os procedimentos cirúrgicos mais realizados hoje em dia para o tratamento de doenças metabólicas, sem dúvida alguma é na cirurgia bariátrica (tratamento de obesos) que encontramos a maior quantidade de estudos avaliando resultados frente ao DM2. Em consenso publicado por Buchwald, em 2009, estabelece-se como procedimentos indicados para tratamento de doença metabólica, o bypass gástrico em Y de Roux (BGYR), a banda gástrica ajustável (BGA), a derivação biliopancreática (DBP) que pode estar associada a *duodenal switch* e a gastrectomia vertical. (BUCHWALD; OIEN, 2009)

Em 2004, Buchwald, em importante trabalho de metanálise, avalia o potencial de diferentes técnicas quanto a sua capacidade de controlar comorbidades associadas ao metabolismo como a hipertensão arterial, dislipidemias, diabetes e obesidade. (Tabela 2)

Tabela 2 - Eficácia de diferentes técnicas de operações bariátricas quanto à comorbidades metabólicas

	<i>BGA</i>	<i>RYGB</i>	<i>DBP</i>
Resolução do DM2	48%	84%	98%
Resolução da HAS	43%	68%	83%
Melhora da hiperlipidemia	59%	97%	99%
Perda de peso %	47%	62%	70%

Fonte: DM2- diabetes tipo 2, HAS- hipertensão arterial sistêmica, LAGB – banda gástrica ajustável laparoscópica, RYGB-*bypass* gástrico em Y de Roux, BPD- derivação biliopancreática. Adaptado de Ann. N.Y. Acad. Sci. 1212 (2010) E37–E45.

A remissão do DM2 é observada nos primeiros dias de pós-operatório após RYGB e DBP. (SJÖSTRÖM et. al., 2004) Esse efeito antidiabético precoce não é observado em pacientes submetidos a procedimentos puramente restritivos como o BGA, fortalecendo o papel dos entero-hormônios intestinais na resolução precoce do DM2 após cirurgias bariátricas e metabólicas. De fato, LaFerrere et al., em 2008, mostram o resultado do estudo prospectivo em que pacientes obesos e diabéticos são randomizados para tratamento clínico ou cirúrgico através de BGYR. Após perda equivalente de peso (~9.5 kg), o grupo de pacientes operados mostrou melhora mais expressiva na tolerância à glicose que os pacientes não operados, acompanhada por maiores níveis séricos de GLP-1. (LAFERRERE et al., 2008)

Em estudo coorte prospectivo, multicêntrico (SOS) ainda em andamento comparando o tratamento de pacientes obesos através de cirurgia bariátrica (BGYR, gastroplastia vertical com anel e BGA) ou tratamento medicamentoso mostrou que, além de apresentarem melhores resultados quanto à perda de peso, os pacientes operados também tiveram melhor controle da hiperglicemia, além de mostrarem um risco 3 vezes menor de desenvolver diabetes durante o período de acompanhamento de 10 anos. (SJÖSTRÖM et al., 2004) Quando comparado ao grupo não operado, houve diminuição significativa na incidência de eventos cardiovasculares e também do número de mortes por infarto agudo do miocárdio no grupo operado. (SJÖSTRÖM et al., 2012)

Os trabalhos mostrando os benefícios da cirurgia metabólica não se restringem somente a pacientes obesos mórbidos. Fried et al., em 2010, publicam revisão de 16 trabalhos que retratam a realização de cirurgia metabólica para pacientes com $IMC < 35 \text{ Kg/m}^2$ através de métodos restritivos, disabsortivos e combinados. De forma geral, pacientes classificados como sobrepeso migraram para categoria de normalidade (IMC entre 20-25). (FRIED et al., 2010) No trabalho, a melhora do diabetes foi maior em procedimentos combinados, seguido respectivamente de procedimentos primariamente disabsortivos e restritivos isolados.

Alguns fatores devem ser levados em conta na escolha da técnica quando se propõe a tratar pacientes com DM2. A reserva funcional pancreática é de suma importância (dosagem de peptídeo C), pois tem capacidade de prever a resposta do paciente ao efeito incretínico da cirurgia. Além disto, o tempo de doença, a morbidade e reversibilidade da cirurgia são questões bastante relevantes.

Os novos conhecimentos sobre a fisiologia do trato digestivo e sua relação com o metabolismo energético nortearam o desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas para o tratamento de doenças metabólicas. (AHN, 2010)

A partir dos estudos de Koopmans *et al.* a respeito da transposição ileal para regulação de apetite e perda de peso, diferentes autores têm pesquisado a técnica. (KOOPMANS et al., 1982) O princípio do procedimento é a interposição de porções intestinais distais, ricas em células L, em contato com o alimento ingerido, sem proporcionar exclusão de segmentos intestinais e desta forma não causar desnutrição. Em artigo de revisão da literatura realizada por Mason (1999), o autor sugere que a transposição ileal possa ser o tratamento ideal para obesidade e possivelmente diabetes, devido a capacidade de promover perda de peso além de aumentar os níveis séricos pós prandiais de enteroglucagon (GLP-1, PYY, oxintomodulina). Utilizando os princípios da transposição ileal, DePaula et al. em 2006, descreveram um procedimento denominado “*neuroendocrine brake*” que envolve a gastrectomia vertical (*sleeve gastrectomy*), associada à interposição de um segmento de íleo com 100 cm de extensão, preservando seu pedículo vascular, em posição 50 cm distal ao ligamento de Treitz. Através do método, busca-se a diminuição do estímulo duodenal pelos alimentos através da gastrectomia vertical, a diminuição de hormônios orexígenos como a grelina e o aumento dos hormônios incretínicos como GLP-1 e PYY através da interposição do segmento de íleo distal. (Figura 11)

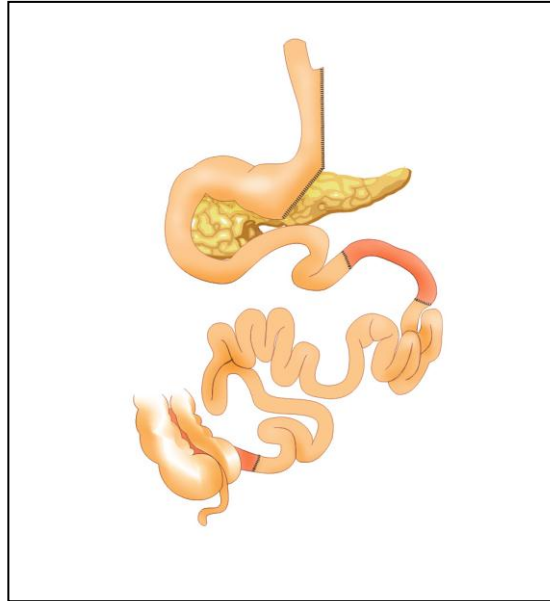


Figura 11 – Gastrectomia Vertical com interposição ileal

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador, 2012.

De fato, os autores vêm relatando bons resultados, com melhora importante dos parâmetros clínicos e metabólicos. A técnica vem sendo realizada experimentalmente inclusive em pacientes não obesos com IMC abaixo de 30. (DEPAULA et al., 2009)

1.4.4 Adaptação Digestiva com *Duodenal Switch* Parcial (DSP)

Morfologicamente o trato digestivo permanece com as mesmas características anatômicas há milênios. Em contrapartida, nesse período, a dieta humana mudou de forma expressiva. Há aproximadamente 10.000 anos, com o desenvolvimento da agricultura, o homem mudou seu perfil caçador-coletor para se adaptar ao cultivo da terra. Conseqüentemente, houve aumento da oferta de nutrientes na dieta superando a escassez absoluta dos tempos anteriores. De forma bem mais recente, nos últimos dois séculos, principalmente após a Revolução Industrial, mudanças mais drásticas na alimentação humana ocorreram, com a oferta de alimentos mais refinados, ricos em nutrientes, de forma abundante e de baixo custo. Tendo em vista os altos índices de doença metabólica na população mundial, com níveis em elevação e coincidentes com a mudança do nosso comportamento alimentar, sugeriu-se que exista uma inadequação entre nosso trato digestivo, preparado para a escassez, e a dieta moderna (SANTORO et al., 2003; SANTORO, 2006)

Os carboidratos ditos "modernos" são diferentes dos consumidos antes do início do século 20. O processo de refinamento de grãos aumenta seu índice glicêmico, reduz a quantidade de fibras em 80% e de proteínas em 30%, restando compostos ricos em carboidratos de alta absorção. De forma geral, nos dias atuais, houve uma substituição da dieta rica em fibras e de baixo índice glicêmico, por alimentos com altas carga e índice glicêmico (GROSS et al., 2004), aumentando significativamente a glicemia e a demanda insulínica. Essa inadequação, associada ao sedentarismo, são importantes fatores desencadeantes de doenças metabólicas.

Foi proposto por Santoro, em 2003, um tratamento estagiado para síndrome metabólica, denominado adaptação digestiva. (SANTORO et al. 2003) A técnica reduz a hiperalimentação adequando o tamanho da câmara gástrica através da gastrectomia vertical "frouxa", método que contempla a ressecção do fundo e parte do corpo gástrico, assim diminuindo também os níveis de grelina e diminuindo o tempo de esvaziamento gástrico. Propõe como meio de adaptação digestiva, a enterectomia, se iniciando no jejuno proximal a 80 cm do ligamento de Treitz, extendendo-se distalmente até 260 cm da válvula íleo-cecal (Figura 12). O método que envolve uma enterectomia e anastomose término-terminal, não altera a sequência do fluxo alimentar pelo intestino delgado, e retira parte do jejuno, hiperabsortivo, do trânsito alimentar, envolvido diretamente na gênese da morbidade relacionada ao DM2 sem gerar desnutrição ou diarreia.

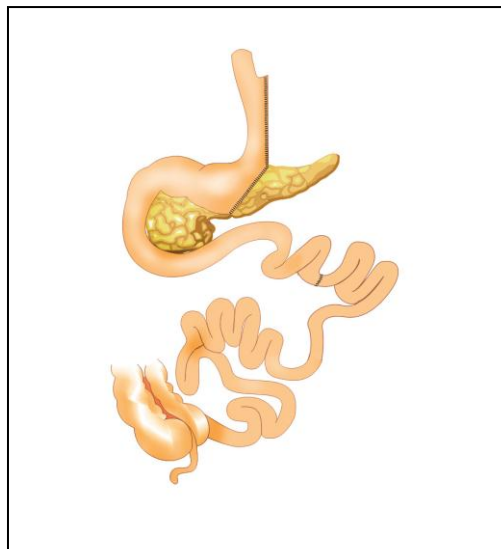


Figura 12 - Gastroentero-omentectomia

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador, 2012.

Além disso, a técnica visa à retirada de um segmento do trato digestivo com importante capacidade lipogênica e colesterogênica em estado de resistência a insulina. (KHOSROW, 2008; KROSROW; LEWIS, 2008) Estudos mostram que o intestino delgado, além de função absorptiva, contribui com até 35% da produção endógena de glicose em estado de jejum (ZITOUN et al., 2004), sendo que a ressecção intestinal estimula ainda a secreção de enteroglucagon (GLP-1, PYY, oxintomodulina), gerando efeito incretínico através do estímulo alimentar ao intestino distal. O acompanhamento clínico por três anos, de pacientes submetidos à entero-omentectomia, mostra níveis persistentes de resposta do GLP-1 ao estímulo alimentar, sem complicações nutricionais. (MILLÉO et al., 2011) O método apresentou resposta superior ao *bypass* gástrico tipo Capella quanto a correção da hipertrigliceridemia pós-prandial quando comparados de forma retrospectiva. (MILLÉO et al., 2006)

A técnica inclui ainda a omentectomia (resseção parcial do grande omento) que visa diminuir a gordura visceral, produtora de fatores inflamatórios e adipocinas que pioram o estado de resistência a insulina. Em estudo randomizado recente, Dillard et al.(2011) comparam os resultados de pacientes submetidos à cirurgia de *bypass* gástrico associado ou não à omentectomia. Nos pacientes submetidos à ressecção do tecido adiposo visceral, houve melhora significativa no controle glicêmico, perfil lipídico e níveis de adipocinas. Em cães não obesos, considerados bons modelos experimentais para o estudo da resistência a insulina, Lottati et al. mostra que, apesar da remoção do omento não diminuir o volume de gordura visceral de forma significante estatisticamente, constatou-se que esta pequena diminuição volumétrica da gordura visceral promoveu diminuição significativa da resistência periférica a insulina. Os resultados reforçam o papel importante do grande omento na gênese da síndrome plurimetabólica. (LOTTATI et al., 2009)

Heap e Cummings (2008) descrevem um procedimento bastante semelhante ao descrito por Santoro et al. (2003), envolvendo gastrectomia vertical, omentectomia e enterectomia, diferindo da técnica de Santoro tendo em vista a colocação de anel de *silastic* como estratégia restritiva. Os autores descreveram resultados bastante animadores em relação à perda de peso e melhora de comorbidades em 267 pacientes operados pela técnica.

A evolução da técnica de adaptação digestiva, levou Santoro et al. a descrever uma modalidade cirúrgica que pratica a teoria do intestino anterior e posterior, denominada adaptação digestiva com bipartição intestinal. A cirurgia é realizada aos moldes da técnica operatória DBP com *duodenal switch*, diminuindo consideravelmente o fluxo alimentar pelo duodeno e jejuno proximal sem excluí-los do contato alimentar (SANTORO et al.,2006;

SANTORO et al., *in press*), sendo também denominada como adaptação digestiva com *Duodenal Switch* Parcial (DSP), nome adotado neste estudo. Após gastrectomia vertical, procede-se com a secção do íleo distal 260 cm proximalmente a válvula íleo-cecal, com reconstrução em Y de Roux através de gastro-íleo anastomose (Figura 13) O fluxo alimentar ocorre preferencialmente através da anastomose com o estômago, sem, contudo interromper a participação do duodeno na absorção alimentar. (SANTORO et al., 2006)

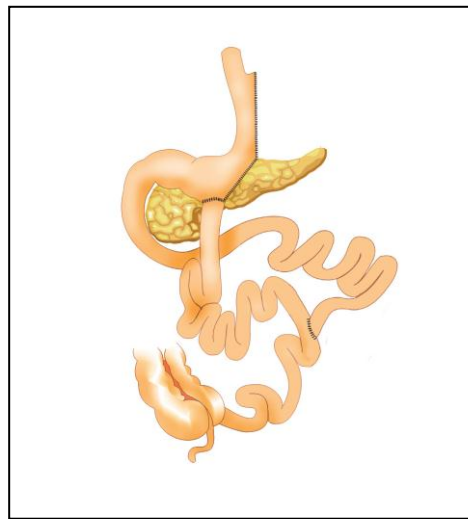


Figura 13 - Adaptação digestiva com *duodenal switch parcial*

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador, 2012.

A técnica carrega os benefícios da reconstrução em Y do trato gastrointestinal com estímulo precoce das células L ileais, sem excluir o duodeno do contato alimentar. Cirurgias com exclusão duodenal tendem a apresentar uma taxa elevada de distúrbios nutricionais, principalmente anemia, já que é no segmento duodenal que ocorre a maior parte da absorção do ferro ingerido. (LOVE et al., 2008) A prevalência de anemia e deficiência de micronutrientes como a vitamina B12 pode chegar a 63,6% dos pacientes em 3 anos de seguimento pós-operatório. O segmento de duodeno e jejuno excluído transporta a bile, enzimas digestivas e secreções gástricas. O conteúdo alimentar somente se mistura ao conteúdo biliopancreático em porções distais do íleo, ou seja, a porção duodenal onde ocorre a maior parte da absorção de ferro e muitos nutrientes fica desprovida de trânsito alimentar. Além disso, a absorção do ferro ocorre somente após solubilização do íon pelo baixo pH do estômago, passando do estado férrico Fe^{+3} para o estado ferroso Fe^{+2} . Nas técnicas que envolvem a exclusão duodenal, o conteúdo gástrico com baixo pH, não alcança o duodeno. (ANGEL et. al., 2008) Através do método, os autores mostram resultados expressivos quanto

a adequação do peso corporal e resolução de diabetes tipo 2, sem criar segmentos excluídos no trato digestivo. (SANTORO et. al., 2008)

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo primário

- Avaliar o impacto da técnica de cirurgia metabólica de adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial (DSP) em pacientes diabéticos com IMC<35 Kg/m², nos períodos de 3 meses, 6 meses e um ano após o procedimento, sendo avaliadas as variáveis:
 1. glicemia de jejum e pós-prandial;
 2. hemoglobina glicada;
 3. índice de massa corpórea;
 4. necessidade de medicamentos para controle do DM2;
 5. concentração de triglicerídeos plasmáticos em jejum.

2.2 Objetivos secundários

- Avaliar os níveis séricos de GLP-1 e GIP pelo método *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA) no período pré-operatório e três meses após a cirurgia. Análises realizadas em jejum e pós-prandial.
- Avaliar a expressão do gene p53 na mucosa duodenal e ileal no período pré-operatório e 3 meses após a cirurgia pelas técnicas de rt-PCR e *western blot*.

3 PACIENTES E MÉTODO

Trata-se de um estudo observacional, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) (Anexo 3)

3.1 Seleção dos pacientes

Participaram do estudo, pacientes adultos provenientes do Departamento de Cirurgia Bariátrica e Metabólica da Sociedade Beneficente São Camilo – Hospital Vicentino, em parceria com o Instituto de Pesquisa Aplicada em Medicina (INSPAM) e Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

3.1.1 Critérios de inclusão

Pacientes portadores de DM2 por período mínimo de 2 anos, com insuficiente controle clínico individualizado, definido como níveis de HbA1C >7%, com idade entre 30 e 60 anos e Índice de Massa Corpórea (IMC) >25 e <35, podendo apresentar comorbidades associadas ao DM2 que não contra-indiquem o procedimento cirúrgico.

Consideraram-se, para o diagnóstico de DM2, níveis séricos em jejum de 8 horas, iguais ou superiores a 126mg/dL, e pós-prandial iguais ou acima de 200mg/dl, segundo valores definidos pela WHO 2006.

Para o cálculo do IMC, foram utilizados os parâmetros antropométricos de peso e altura, analisados pela equação: $IMC = \text{peso Kg} / \text{altura}^2$, conforme proposto pela Organização Mundial de Saúde. (WHO, 2000)

Todos receberam orientações sobre detalhes do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 4)

3.1.2 Crítérios de exclusão

Pacientes com peptídeo C < 0,9 ng/dl na avaliação pré operatória, estado de gravidez, história de câncer prévio, HIV positivo, portadores de hepatite B e C, doença inflamatória intestinal, dependência de drogas ou álcool e distúrbios psiquiátricos.

3.2 **Coleta e análise do material**

As análises do estudo envolveram a coleta de amostras de mucosa intestinal e sangue periférico conforme descrição estruturada:

3.2.1 Coleta da mucosa duodenal e ileal

Durante o período de avaliação pré-operatória, um protocolo de exames é realizado, dentre eles, a endoscopia digestiva alta sob sedação profunda utilizando a droga endovenosa “propofol” com assistência de médico anesthesiologista. No momento da duodenoscopia, foram coletadas quatro amostras de mucosa, com aproximadamente 3 mm³ cada, através de pinça padrão para procedimento de biópsia endoscópica. Na técnica de adaptação digestiva com DSP, é realizada anastomose do íleo, 260 cm proximal à válvula íleo-cecal (FIGURA 13), com o antro gástrico. No transoperatório, foram coletadas 4 amostras de mucosa ileal com aproximadamente 3 mm³ cada, da porção ileal utilizada para anastomose íleo-gástrica.

No terceiro mês de pós-operatório, foi realizada endoscopia digestiva alta para análise da neocâmara gástrica e perviedade da anastomose íleo-gástrica. Durante o procedimento foram coletadas novas biópsias do duodeno e da porção do íleo, coincidente com a região de coleta do período trans-operatório. (Ver Figura 13)

Após a coleta, o material foi acondicionado em solução RNA *later* e resfriadas a -70 C para posterior estudo por rt-PCR e *western blot*.

3.2.1.1 Ensaios de expressão gênica por rt-PCR

As amostras de mucosa armazenadas em *RNA later* foram processadas para a extração do RNA total. Primeiramente, o tubo contendo a amostra foi sujeito à centrifugação por 5 minutos à 15000g em centrífuga refrigerada (4°C) para que houvesse a separação do tecido da solução, que foi descartada. O tecido presente no fundo do tubo foi então macerado mecanicamente na presença de nitrogênio líquido.

Após ruptura mecânica do tecido, foi utilizado o kit “*Illustra RNAspin Mini RNA Isolation Kit*” (GE Healthcare) para a extração e purificação do RNA total do precipitado celular. Os demais passos foram seguidos de acordo com as instruções presentes no protocolo do kit.

Uma pequena alíquota de 5 µl de RNA foi sujeita à eletroforese em gel de agarose 1% (Invitrogen) para verificar a integridade da amostra e 2 µl foram utilizados para quantificação e análise de pureza no espectrofotômetro NanoVue (GE Healthcare).

Para a síntese de cDNA, utilizando como molde o RNA total obtido anteriormente, foi utilizado o kit “*First-Strand cDNA Synthesis Kit*” (GE Healthcare-UK). O experimento foi seguido de acordo com as instruções presentes no manual do fabricante.

Foram utilizados 2 µg de RNA total como molde para a geração da fita de cDNA. Uma alíquota de 2 µl do cDNA foi aplicada em gel de agarose 1% (Invitrogen) para verificação da integridade da amostra e observação de um provável rastro, evidenciando assim o resultado esperado da técnica. As amostras foram então acondicionadas a -20°C para estocagem.

As amostras de cDNA foram amplificadas em duplicata e para cada reação foram utilizados 15 µl de cDNA como molde, 10 µM dos *primers forward* e *reverse* e os reagentes presentes no kit “*Brilliant SYBR[®] Green QPCR Master mix*” (Stratagene - Agilent Technology, EUA).

As condições dos ciclos para amplificação dos cDNAs alvo incluíram um ciclo de 15 minutos a 95° C e procederam com 40 ciclos repetidos de 15 segundos a 94° C, 1 minuto a 60° C e finalmente 30 segundos a 72° C. Como o fluoróforo utilizado foi o *Sybr Green*, os ciclos de amplificação dos genes foram seguidos de um ciclo de 1 min 95° C, 30 seg 55° C e 30 seg 95° C (curva de dissociação). Todas as reações foram realizadas no termociclador MxPro 3005P (Stratagene).

Os *primers* utilizados para a amplificação do gene de referência 18S foram: 5' ATGCGTGCATTTATCAGA 3' (*forward*) e 5' AACTATCCCGTCTGCAAG 3' (*reverse*), gerando um amplicon de 156 pb. Para o gene p53 foram utilizados os seguintes oligonucleotídeos: 5' TAACAGTTCCTGCATGGGCGGC 3' (*forward*) e 5' AGGACAGGCACAAACACGCACC 3' (*reverse*), gerando um fragmento de 121 pb.

Para análise dos dados gerados foi utilizado o método dois elevado a delta delta CT ($2^{\Delta\Delta ct}$) que expressa valores relativos ao controle interno (gene 18 S). Os dados foram normalizados a 1 sendo o controle experimental o estado pré-operatório.

3.2.1.2 Ensaio de expressão gênica por *Western Blot*

Amostras congeladas dos fragmentos de mucosa intestinal foram homogeneizadas em 500 μ l de tampão de lise a 4°C (Tris-HCL 121, 14 mg em 40 ml; NaF 15 mg em 40 ml; NP40 (1%)) adicionado de coquetel de inibidores de proteases (aprotinina 1mg/mL, leupeptina 1 mg/mL e SBTI 1 mg/mL). Proteínas totais do homogenato de células foram dosadas utilizando o kit *BCA Protein Assay Reagent* (Thermo Scientific, Rockford, EUA) e, em seguida, realizada a leitura no Leitor de Elisa com comprimento de onda 545-590nm (TU-1800 UV-VIS, EUA). As amostras foram fervidas em solução tampão (Solução de azul de Bromofenol) por 5 minutos, para evitar a formação de pontes de dissulfeto na proteína.

As proteínas das amostras foram separadas de acordo com o peso molecular em gel de poliacrilamida a 12% (SDS-PAGE) utilizando a concentração de 10 μ g de proteína por slot de gel. As bandas de proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose (Hybond P, Amersham Biosciences, UK). Seguiu-se a reação com o bloqueio das ligações inespecíficas utilizando solução a 2% de BSA (albumina bovina) em T-TBS por 1h e 30min (25° C).

As membranas foram incubadas (*overnight*) em anticorpo específico anti-p53 mouse IgG (1:500) (*Santa Cruz Biotechnology, EUA*). Posteriormente, as membranas foram submetidas a sucessivas lavagens com solução T-TBS, seguindo com incubação em anticorpo secundário específico antimouse 1:3000 (Invitrogen, país) por 1 h. Após mais uma seqüência de lavagens, as membranas foram incubadas com estreptavidina (GE healthcare, UK) na mesma concentração do anticorpo secundário (1:3000) por 1 h, 25° C. As membranas foram lavadas novamente com T-TBS, tratadas com quimioluminescência (ECL, Amersham Biosciences, Inglaterra) por 5 minutos e reveladas em câmara escura em filme Kodak. As

imagens das bandas foram analisadas e quantificadas com auxílio do programa Image J (media cybernetics). Os resultados obtidos foram normalizados pelo percentual da actina.

As análises do controle interno actina foram obtidas através de *stripping* de membrana geradas previamente para análise do p53. Para isto, foi utilizado anticorpo específico anti-beta actina (1:200), com anticorpo secundário anti rabbit monoclonal (1:3000) (Millipore, USA) e estreptavidina (GE healthcare, UK) na mesma concentração do anticorpo secundário (1:3000). A metodologia utilizada foi a mesma realizada para a análise do p53.

3.2.2 Sangue periférico

Para avaliar o impacto da cirurgia frente ao DM2, os pacientes foram orientados a permanecer em jejum de 8 horas e submetidos à coleta de sangue no pré-operatório, no terceiro, sexto e décimo segundo mês de pós-operatório. Foram feitas coletas pós-prandiais para análise da glicemia de 2 horas.

No pré-operatório e no terceiro mês de pós-operatório foram coletadas amostras em jejum aos 30', 60', 90' e 120' min após ingestão de dieta padronizada (Apêndice A), para avaliação dos níveis séricos de GIP e GLP-1.

3.2.2.1 Glicemia de jejum e pós-prandial

O método de realização dos exames foi pelo Colorimétrico Enzimático, utilizando o soro, com valores de referência indicados no Anexo 5.

3.2.2.2 Hemoglobina glicada

O método utilizado na dosagem de hemoglobina glicada foi o Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC) validada pelo NGSP – *National Glycohemoglobin Standart Program*. Valores de referência indicados no Anexo 5.

3.2.2.3 Triglicerídeos plasmáticos de jejum

A metodologia para coleta e análise dos triglicerídeos foi o ensaio Enzimático Colorimétrico (Trigliceridolipase) segundo as Recomendações para o Exame do Perfil Lipídico para Clínicos e Laboratórios-Documento Integrado à IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose da SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia (SPOSITO et al., 2007) Os valores normais de referência são indicados no Anexo 6.

3.2.2.4 Peptídeo C

A metodologia utilizada para aferição do peptídeo C sérico foi a eletroquimioluminescência. Utilizou-se como valor referencial o limite mínimo de 0,9 ng/ml.

3.2.2.5 GLP-1 e GIP

Para coleta do sangue para dosagem entero-hormonal, foi utilizado o anticoagulante EDTA (*Ethylenediamine tetraacetic acid* (1 g/l)); o soro foi separado e congelado em alíquota de 1 ml por frascos identificados e congelados a 70° C negativos.

Após três meses do pós-operatório, os nove pacientes dessa amostra foram submetidos à nova coleta de sangue, com acondicionamento e preservação do material para análise. As amostras foram acondicionadas a -70° C no laboratório do Departamento de Biologia da UEPG onde foram realizados os experimentos pela técnica ELISA. A quantificação da concentração plasmática de GLP-1 e GIP foi realizada através do método de ELISA (*Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*). Os peptídeos foram quantificados de acordo com descrição do fabricante *Phoenix Pharmaceuticals, INC- USA*, através de ensaio imunoenzimático competitivo.

3.3 Cirurgia metabólica (adaptação digestiva com duodenal switch-parcial)

3.3.1 Pré-operatório

O paciente foi avaliado por equipe multidisciplinar que envolveu médico cardiologista, médico endocrinologista, nutricionista, fisioterapeuta e psicólogo. As consultas visam à diminuição dos riscos intrínsecos ao procedimento cirúrgico, sendo realizados exames de acordo com a indicação do profissional médico. Avaliação nutricional e orientações quanto a dieta a ser seguida no pós-operatório imediato foram feitas, além de sessões de fisioterapia respiratória no pré-operatório. Avaliação psicológica foi realizada visando excluir distúrbios psicológicos que impedissem o procedimento.

3.3.2 Procedimento operatório

Os pacientes foram internados 24 horas antes da cirurgia, para controle dos níveis glicêmicos pelo Serviço de Endocrinologia.

No centro cirúrgico, foram posicionados em decúbito dorsal horizontal, e os braços abduzidos em ângulo reto.

Anestesia geral combinada (peridural + inalatória) foi instituída. Para anestesia peridural foi utilizadas bupivacaína 0,5 mg/ml e morfina 1 mg/ml. Na anestesia inalatória foi utilizado o gás isoflurano. Os pacientes foram mantidos sob monitorização cardíaca, controle de pressão arterial não invasiva e da saturação sanguínea de oxigênio e dióxido de carbono através de oxímetro de pulso e capnógrafo, respectivamente. O controle dos níveis glicêmicos foram realizados por HGT a cada 30 minutos.

Foram utilizadas botas pneumáticas (DVT PHLEBO PRESS- Mego Afek AC Ltd) durante o procedimento e mantidos até o dia seguinte quando o paciente inicia a deambulação. Utilizou-se heparina de baixo peso molecular 0,3ml subcutâneo, mantendo-se esta dosagem de 12 em 12 horas durante o período de internamento hospitalar, como profilaxia dos fenômenos tromboembólicos.

A cirurgia foi realizada por via laparotômica, com incisão mediana supra-umbilical de 8 a 10cm, com divulsão do tecido celular subcutâneo manualmente até a visualização da linha alba. Abertura da cavidade, exploração manual da mesma.

O grande omento foi ressecado através de dissecação cautelosa separando assim o epíplon do cólon.

Foi realizada dissecação do ligamento gastro-cólico e de toda a grande curvatura gástrica com hemostasia dos vasos gástricos curtos através da pinça Atlas do bisturi ultrassônico (*Liga-sure*®). Após completa liberação do fundo gástrico, procedido com a gastrectomia vertical através de secção longitudinal do estômago com grampeadores lineares cortantes (*Auto Suture*®), desde 6 cm proximal ao piloro até o ângulo de Hiss sob calibragem da sonda de *Fouchet 32 French*.

Localizou-se o ângulo de Treitz, da sua extremidade proximal para distal medindo-se 80 cm de jejuno, a serem preservados. Este ponto foi marcado com fio de algodão 0.

Localizada a válvula íleo-cecal, direcionou-se a medida no sentido cranial até perfazer 260 cm de íleo, sendo o ponto da enterotomia. O intestino compreendido entre este ponto e a marcação inicial no jejuno foi ressecado. Da margem distal do íleo seccionado, coletadas 4 amostras de mucosa ileal com aproximadamente 5 mm³. Os fragmentos foram acondicionados em solução RNA *later* com posterior congelamento a - 70°C. A secção e hemostasia dos vasos mesentéricos foi realizada com auxílio de uma pinça Atlas do *Liga-sure*®.

Realizada jejunóileoanastomose término-lateral, 80 cm proximal ao íleo terminal e gástro-íleo anastomose conforme Figura 13 (ver Revisão da Literatura). As anastomoses foram realizadas em dois planos, com fio absorvível de poliglactina 3-0 (*vycril*®) com posterior aproximação das brechas do mesentério.

Os pacientes foram encaminhados à Unidade de Terapia Intensiva para acompanhamento do período pós-operatório imediato permanecendo na unidade por 24 horas.

3.3.3 Acompanhamento pós-operatório

Foi instituído jejum por 48 horas no pós-operatório. Após este período, iniciada dieta com líquidos claros fracionada, inicialmente com 50 ml de 20 em 20 minutos, progredindo para volumes maiores conforme a aceitação da dieta oral, com a meta de ultrapassar 2.000 ml ao dia. A hidratação venosa foi sendo diminuída conforme a oral foi aumentando.

Os critérios para alta hospitalar no terceiro dia do pós-operatório foram fundamentados na evolução clínica satisfatória, principalmente no controle da dor, estabilidade das comorbidades e na capacidade de alimentação, conforme orientação do serviço de nutrição. Quando necessário, o paciente permaneceu hospitalizado até preencher os critérios de alta hospitalar.

No sétimo dia de pós-operatório, os pacientes foram reavaliados ambulatorialmente para retirada de pontos alternadamente. No décimo quarto dia de pós-operatório, orientações quanto à dieta para diabetes (até 1500Kcal/dia) foram realizadas pela profissional nutricionista. Pontos de pele remanescentes foram retirados. Consultas semanais foram realizadas com endocrinologista para adequação do tratamento clínico do DM2 conforme a necessidade de cada pacientes.

Durante os seis primeiros meses, os pacientes foram reavaliados pelo cirurgião mensalmente sendo que as consultas com médico endocrinologista foram adequadas de acordo com a necessidade definida pelo profissional. Entre 6 e 12 meses, os pacientes foram avaliados bimestralmente.

3.4 Análise Estatística

3.4.1 Análise das variáveis laboratoriais

Foram geradas médias para as variáveis aferidas em diferentes momentos. Para verificar a existência de diferença entre as médias dos grupos pré e pós-operatórios, foram usados os testes *t-student* e análise de variância (ANOVA). O nível de significância estatístico foi estabelecido como 5%. Os dados coletados foram processados e analisados com auxílio do programa *Graph Pad Prisma Star 5.0* (MOTULSKY, 2007)

3.4.2 Avaliação entero-hormonal

Os resultados referentes à secreção entero-hormonal foram analisados a partir do cálculo da área sob a curva de progresso da doença (ASCPD) (SHANER E FINNEY, 1977), que foi

obtida através do software The SAS System, Release 9.1.3 for Windows. Copyright© 2002-2003 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Os resultados referentes às concentrações entero-hormonais em diferentes momentos, tiveram suas áreas calculadas nos períodos pré e pós-operatório. As médias do somatório das áreas no pré e pós-operatório foram comparados pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

3.4.3 Avaliação da expressão gênica

3.4.3.1 qrt-PCR

Os dados obtidos pelo qrt-PCR foram normalizados pelo controle interno (gene 18S) resultando a expressão relativa do gene em relação ao controle. Os valores obtidos pelo cálculo de $\Delta\Delta ct$ foram analisados pelo método ($2^{-\Delta\Delta ct}$). As médias normalizadas foram comparadas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

3.4.3.2 *Western Blot*

Os dados obtidos pelo método western blot tiveram suas áreas quantificadas pelo software Image J®, sendo que os valores obtidos da análise do p53 foram normalizados pelos valores da actina (p53/actina). As médias nos dois momentos diferentes foram comparadas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS

4.1 Casuística

Durante o período de maio a dezembro de 2010, nove pacientes com DM2 e IMC entre 26 e 34 kg/m² foram submetidos à cirurgia de DSP. Cinco pacientes eram do sexo feminino (55,56%) e quatro masculino (44,4%). A tabela 3 mostra a distribuição dos pacientes em relação à idade, tempo de diagnóstico de DM2 e IMC.

Tabela 3 – Distribuição dos Pacientes em relação à idade, tempo de diagnóstico M2 e IMC inicial

Variável	N	Média ± D.P.	Mínimo	Máximo
Idade (anos)	9	47, 11 ± 7,84	30,00	53,00
Tempo de diagnóstico do DM2	9	9 ± 3,68	3,00	11,00
IMC inicial (kg/ m ²)	9	31, 17 ± 2, 18	26,47	33,39

Fonte: Dados da Pesquisa, 2012.

Nota: N – casuística; D.P. – desvio padrão

4.2 Resultados clínicos

Os nove pacientes operados tiveram boa evolução pós-operatória, com boa aceitação da dieta, hábito intestinal dentro da normalidade individual e retorno às atividades precocemente, e sem necessidade de reinternações.

4.2.1 Medicamentos em uso

A Tabela 4 mostra os medicamentos hipoglicemiantes utilizado pelos pacientes no pré e pós-operatório, de forma individualizada.

De forma geral, seis pacientes (66,7%) estavam em uso de insulina antes da realização do procedimento cirúrgico. Todos interromperam o tratamento após a cirurgia. Após um ano de acompanhamento clínico pós-operatório, 8 pacientes (88,9%) tiveram suspensas a utilização de qualquer medicação antidiabéticas e 1 (11, 1%) está em uso devido à indicação

do endocrinologista que a acompanha, buscando melhor otimização do tratamento. Seis pacientes (66,7%) eram hipertensos e utilizavam medicações antihipertensivas. Ao final de 1 ano de acompanhamento, somente 1 dos pacientes (11,1%) permanecia em uso de antihipertensivo via oral. Todos os pacientes apresentavam algum grau de esteatose hepática no pré-operatório, sendo que após um ano da cirurgia metabólica, nenhum deles apresentava sinais ultrassonográficos de esteatose.

Tabela 4 – Medicações hipoglicemiantes em uso

Paciente	Pré operatório	Pós-operatório (1 ano)
1	Metformina+glimepirida*	-
2	Glimepirida+metformina	-
3	Metformina+glimepirida+NPH	-
4	Metformina+NPH	-
5	Metformina+IR+NPH	Inibidor DPPIV
6	Metformina+glimepirida+NPH+IR	-
7	Metformina+sulfoniluréia+NPH	-
8	Glimepirida+metformina	-
9	Glimepirida+metformina	-

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

Nota: *Paciente recusou-se a usar insulina.

4.2.2 Evolução do índice de massa corpórea

De maneira geral, após um ano do procedimento cirúrgico, houve perda equivalente a 22,8% do IMC inicial sendo que 22, 2% foram perdidos nos primeiros 6 meses (Gráfico 1). Tabela com a evolução individual do IMC é mostrada no Apêndice B. A tabela com o percentual de perda do IMC de forma individualizada é indicada no Apêndice C.

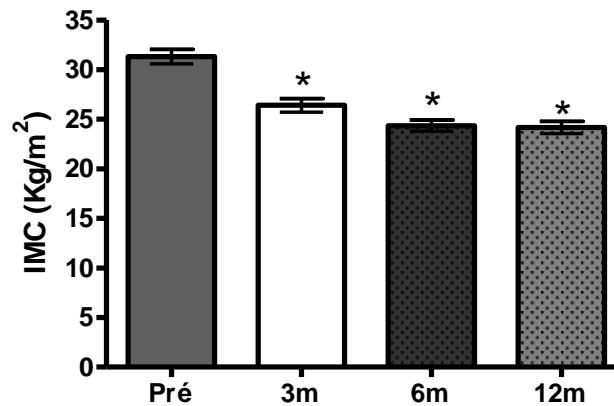


Gráfico 1 - Evolução do IMC

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova) . Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.2.3 Complicações

Um dos pacientes apresentou estenose parcial da anastomose íleo-gástrica, identificada durante o exame de endoscopia digestiva alta, três meses após a cirurgia. Durante o mesmo exame, optou-se por dilatação da anastomose com balão hidrostático endoscópico. A endoscopia de controle, 30 dias após a dilatação, constatou o sucesso do procedimento de dilatação, com boa perviedade da anastomose, quando assim foram realizadas as biópsias da mucosa ileal.

4.3 Resultados laboratoriais

4.3.1 Peptídeo C

Em relação aos níveis pré-operatórios, houve aumento dos níveis de peptídeo C séricos nos diferentes períodos de análise no período pós-operatório, conforme indicado no Gráfico 2. Houve diferença significativa nos três períodos avaliados no pós-operatório em relação ao pré-operatório. Tabela com a evolução individual dos níveis de peptídeo C é mostrada no Apêndice D.

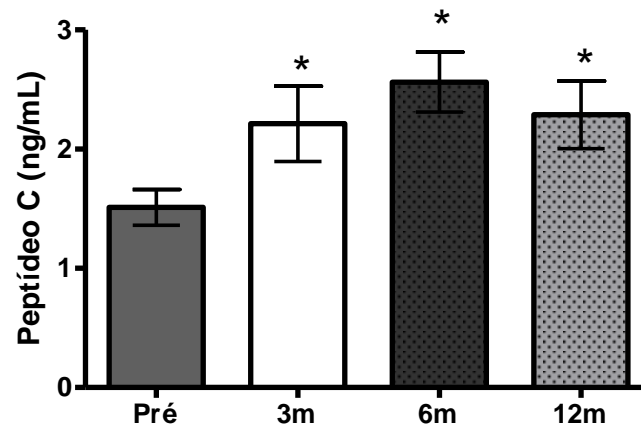


Gráfico 2 - Concentrações séricas de peptídeo C

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova) . Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.3.2 Glicemia de jejum e pós-prandial

Tanto os níveis de glicemia de jejum e pós-prandial tiveram diminuição significativa ($p < 0,05$) de seus níveis quando comparado o período pré-operatório com o pós-operatório, sendo que a evolução das médias e desvio-padrão referentes às aferições nos diferentes períodos é indicada nos Gráficos 3 e 4. A evolução individual dos valores de glicemia de jejum e pós-prandial é mostrada nos Apêndices E e F.

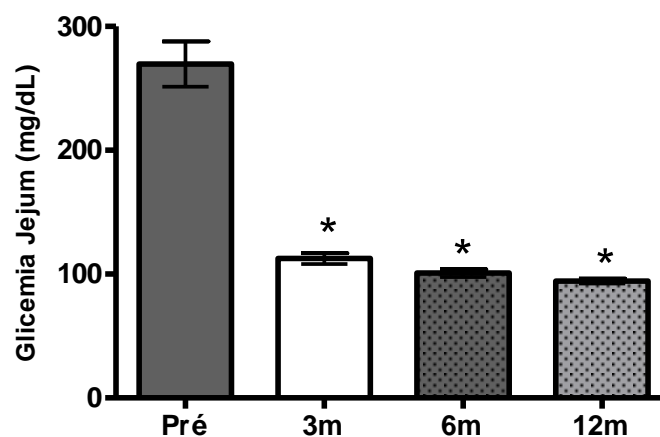


Gráfico 3 - Glicemia de Jejum

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

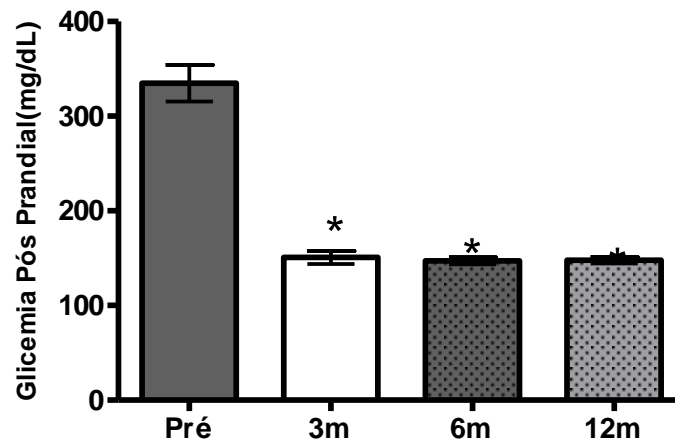


Gráfico 4 - Glicemia pós-prandial

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova) .Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.3.3 Hemoglobina glicada

A análise da hemoglobina glicada mostrou diminuição significativa de seus níveis quando comparado o período pré-operatório em relação ao pós-operatório conforme dados da Tabela 4 e ilustrado no Gráfico 5. Após seis meses da cirurgia, a média da HbA1c foi menor que 6. Valores que persistiram durante todo o acompanhamento clínico pós-operatório. Tabela com a evolução individual dos pacientes é mostrada no Apêndice G.

Tabela 5 - Médias (%) de hemoglobina glicada nos diferentes períodos

	pré-operatório	3 meses	6 meses	12 meses
Média	10,67	6,79	5,80	5,88
Desvio Padrão	1,78	0,31	0,72	0,79

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

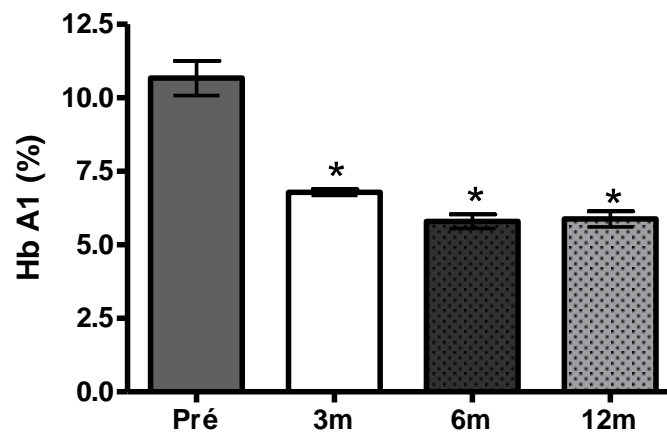


Gráfico 5 - Médias (%) de hemoglobina glicada nos diferentes períodos

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova) .Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.3.4 Triglicerídeos de jejum

Houve diminuição dos níveis de triglicerídeos séricos no pós-operatório, sendo encontrada diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), quando comparados os períodos pré-operatórios com os níveis pós-operatórios, conforme indicado no Gráfico 6. Os níveis individuais de trigliceridemia de jejum são mostrados no Apêndice H.

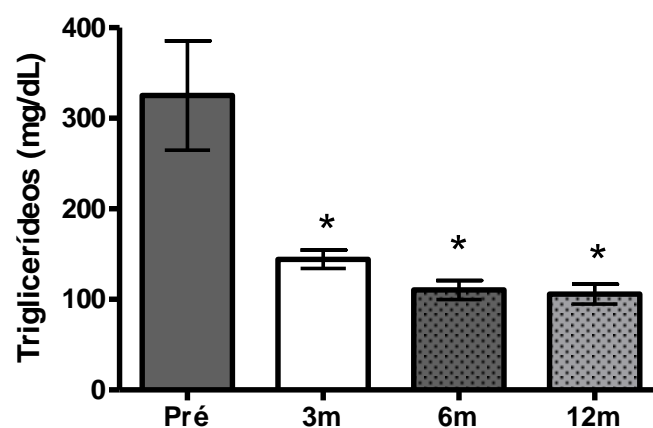


Gráfico 6 - Níveis de triglicerídeos séricos em jejum

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova) * $p < 0,05$.

4.3.5 Entero-hormonais GLP-1 e GIP

A análise da concentração entero-hormonal sérica mostrou aumento significativo dos níveis de GLP-1 no pós-operatório tanto em jejum quanto nos períodos pós prandiais estudados (Gráfico 7), sendo as diferenças entre o período pré-operatório e pós-operatório mais expressivas 60 e 90 minutos após ingestão alimentar. Os valores individuais são mostrados no Apêndice I.

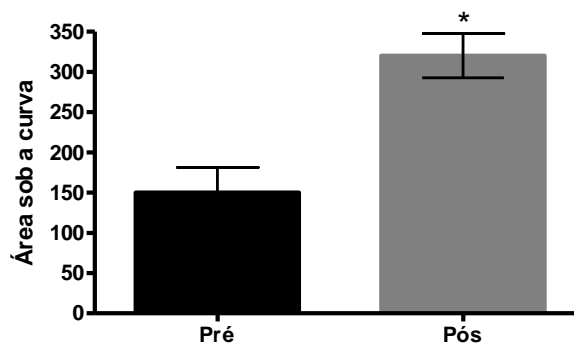


Gráfico 7 – Soma da área sob a curva dos níveis de GLP-1 em jejum e pós prandiais, no período pré e pós-operatório (Nota: $p < 0,05$)

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Em relação ao entero-hormônio GIP, houve uma tendência de redução dos seus níveis no pós-operatório, contudo, a diferença não foi significativa quando avaliada pelo teste *t-student* ($p > 0,05$). (Gráfico 8) Valores individuais são mostrados no Apêndice J.

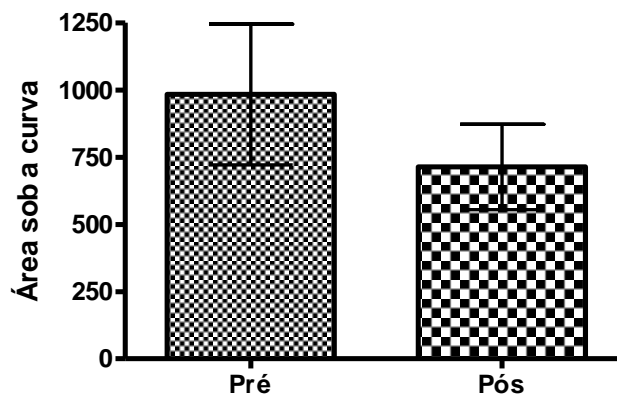


Gráfico 8 - Soma da área sob a curva dos níveis de GIP em jejum e pós prandiais, no período pré e pós-operatório (Nota: $p = 0,12$)

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

4.4 Ensaios de expressão gênica

4.4.1 qrt-PCR

Os resultados referentes aos cálculos de $2^{-\Delta\Delta ct}$ no duodeno e no íleo são mostrados nos Apêndices L e M, respectivamente. Os dados do pós-operatório foram normalizados a 1, usando como controle experimental o estado pré-operatório. A análise estatística comparativa, utilizando o método do *t-student*, mostrou haver um aumento significativo ($p < 0,05$) da expressão do gene em seu estado transcricional ao nível da mucosa duodenal (Gráfico 9) e uma tendência de aumento da expressão relativa do gene na mucosa ileal (Gráfico 10).

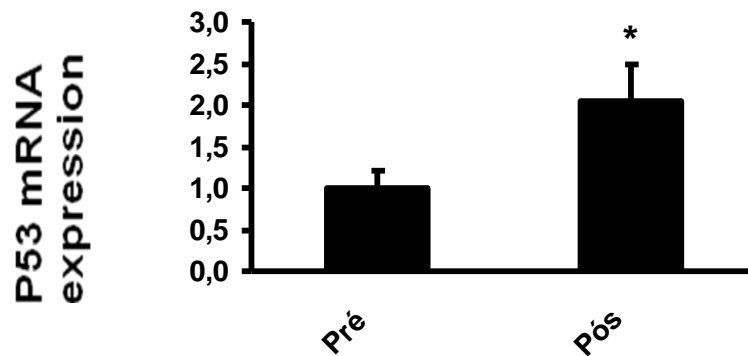


Gráfico 9 - Expressão do p53 relativa ao 18S (controle interno) por rt-PCR (mucosa duodenal)

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Mucosa duodenal (P= 0,05).

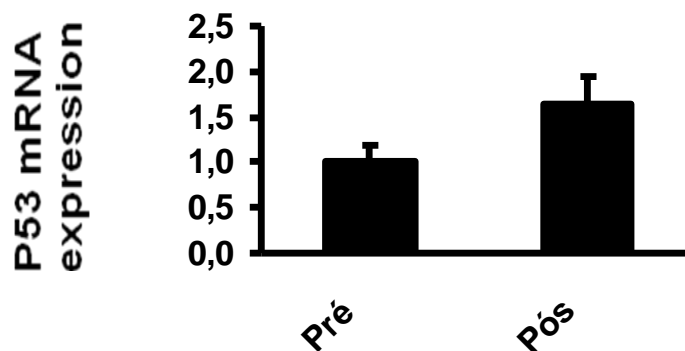


Gráfico 10 - Expressão do p53 relativa ao 18S (controle interno) por rt-PCR (mucosa ileal)

Fonte: dados da pesquisa, 2012.

Nota: Mucosa ileal (P= 0,10).

4.4.2 Western-blot

Houve material suficiente para análise do material de 7 pacientes pelo método *western-blot*. A análise da expressão do gene p53 em seu nível proteico obtido pelo método *western blot*, corrigida pelos níveis de actina (controle interno) mostraram haver uma tendência de aumento de sua expressão quando avaliadas as médias dos grupos pré e pós-operatório, contudo, sem significância estatística ($p=0,1$). A Figura 14 mostra as bandas obtidas durante a experimentação e o Gráfico 11 a média do p53 em seu nível proteico no grupo pré e pós-operatório.

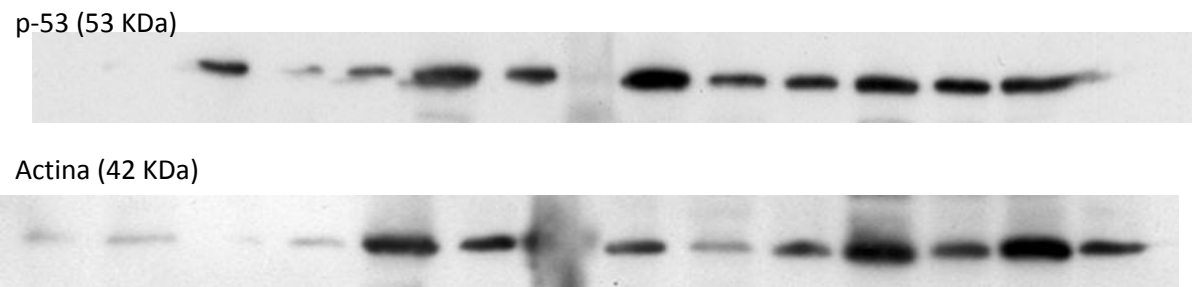


Figura 14 - Resultado da expressão do p53 e actina por *western blot* (mucosa ileal)
 Fonte: dados da pesquisa, 2012.

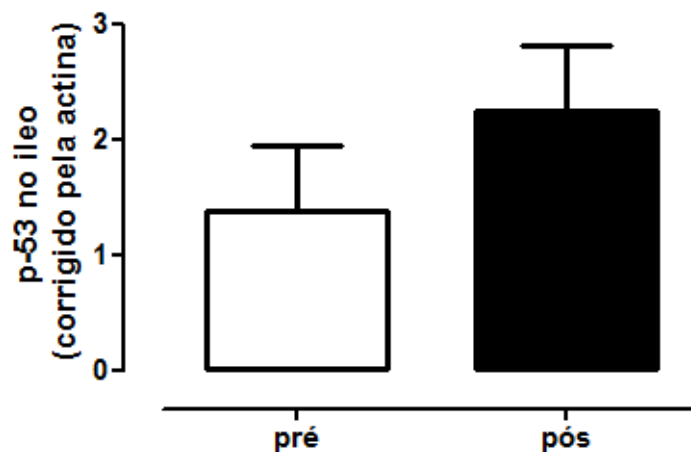


Gráfico 11 – p53 (proteína) na mucosa ileal no pré e pós-operatório (corrigido pela actina)
 Fonte: dados da pesquisa, 2012.

A análise da expressão do p53 por *western blot* resultou na marcação das bandas indicadas na Figura 15.

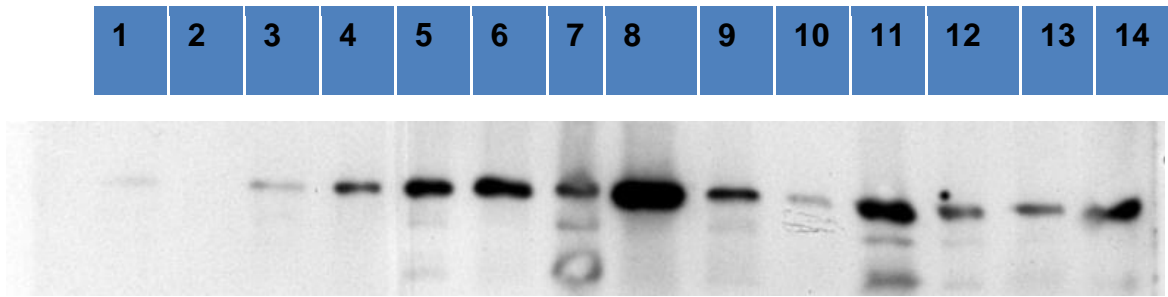


Figura 15 - Resultado da avaliação da expressão do p53 por *western blot* no duodeno
Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

O insucesso em obter a análise da concentração da proteína actina através de *stripping* de membrana, impediu qualquer comparação entre os dois tratamentos (pré e pós). Os números são sequenciais, sendo o primeiro referente ao pré e o segundo referente ao pós-operatório de forma alternada.

5 DISCUSSÃO

Apesar dos critérios para diagnóstico do diabetes estarem bem estabelecidos (WHO, 2006; ADA, 2012), os reais mecanismos que levam ao desenvolvimento do distúrbio metabólico ainda são alvo de questionamento. Fatores genéticos e epigenéticos predisponentes (GLUCKMAN et al., 2007; LYSSSENKO et al., 2012;) associado ao sedentarismo e hiperalimentação são frequentemente citados em estudos relacionados à fisiopatologia do diabetes.

Diferentes alterações genéticas têm sido indicadas como mais prevalentes em pacientes diabéticos. (GAULTON et al., 2008) Destaque tem sido dado a variações do gene TCF7L2 (LYSSSENKO et al., 2007; SHU et al., 2009) ou alterações do gene p53, cuja variação (G-alelo/rs1042522) foi identificada, em grande estudo caso controle, como estando relacionada à maior prevalência de diabetes na população. (BURGDORF et al., 2011) A deficiência em secretar insulina pelo tecido pancreático, assim como a maior resistência de diferentes grupos celulares em utilizar a insulina, pode estar relacionada a diferentes variações no genoma. Nesse sentido, diferentes genes têm sido alvo das pesquisas para elucidar os fatores de risco inatos para o desenvolvimento do distúrbio (ROSENGREN et al., 2012), sendo claro que predisposição não é provocada por alteração genética única.

Se a propensão é fator primordial para o desenvolvimento do DM2, níveis em ascensão acelerada na incidência da doença enaltecem a importância do estilo de vida “moderno”, pautado na hiperalimentação e sedentarismo, na gênese do distúrbio. (HU, 2011)

Esta relação entre a alimentação, o trato digestivo e o DM2 é mais notória quando se avalia a resolução do DM2 nos primeiros dias de pós-operatório de pacientes submetidos a cirurgias bariátricas, independentes da perda ponderal. (SJÖSTRÖM et al., 2004) É sugerida a hipótese de que haja uma grande inadequação evolutiva entre o trato digestivo e o padrão alimentar moderno. A evolução da dieta para componentes mais calóricos e de fácil absorção foi bem mais rápida que a capacidade adaptativa do organismo em lidar com esse padrão de substrato de alto índice e carga glicêmica. (SANTORO, 2008)

A capacidade do tecido gorduroso em promover resistência à insulina faz da obesidade um fator de risco importante para o desenvolvimento do DM2, contudo a doença pode ocorrer em pacientes com menores índices de massa corpórea assim como não se desenvolver em pacientes obesos mórbidos. (MATVEYENKO et al., 2008)

A grande maioria dos estudos que avaliam o efeito das cirurgias gastrointestinais frente ao diabetes é realizada em pacientes obesos mórbidos tendo em vista que os critérios atuais para realização de cirurgias bariátricas/metabólicas têm como objetivo principal o tratamento da obesidade. O mais importante critério de seleção dos pacientes candidatos a cirurgia é o IMC e não comorbidades associadas como a hipertrigliceridemia, hipertensão arterial e o DM2 propriamente dito. No entanto, a maioria dos pacientes diabéticos é classificada como sobrepeso ou obesos leves, tendo em vista seu padrão de obesidade primariamente abdominal (ASTRUP et al., 2000; ADA, 2012), excluindo da indicação cirúrgica uma grande parcela de doentes possivelmente candidatos a correção cirúrgica do DM2, quando refratários ao tratamento clínico. Em nossa casuística, optamos por tratar pacientes excluídos do protocolo para cirurgia bariátrica, classificados como portadores de obesidade grau I ($30 < \text{IMC} < 35$) e sobrepeso ($25 < \text{IMC} < 30$) associado à DM2 de difícil tratamento clínico. Tratando pacientes não obesos mórbidos, o procedimento DSP promoveu perda completa do excesso de peso, com queda média do IMC após 1 ano da cirurgia na ordem de 22%. O Apêndice B mostra a evolução do IMC de forma individual nos doentes tratados no estudo. Todos os pacientes da amostra migraram da classificação de sobrepeso e obesidade grau I para peso normal ($\text{IMC} > 20$ e < 25).

Após 6 meses da cirurgia, houve uma tendência de estabilização da perda ponderal sendo que, dos 6 meses até 12 meses, a diminuição do IMC foi menor que 1%, não havendo diferença estatística entre as médias de 6 meses e 1 ano de pós-operatório quando as médias foram analisadas pelo teste Tukey. A perda do excesso de peso, que foi total nesta amostra, auxilia na diminuição de tecido gorduroso resistente a insulina, diminuindo a demanda pelo hormônio e consequentemente a sobrecarga às células beta pancreáticas. (KAHN, 2003) Atribui-se a perda de peso, principalmente à menor ingestão alimentar no pós-operatório e à modulação entero-hormonal provocada pelo procedimento.

Existe uma tendência a diminuir valor do IMC para tratamento de pacientes com doença metabólica. De acordo com consenso do IDF (*International Diabetes Federation*), os procedimentos cirúrgicos para tratamento de doenças metabólicas podem ser realizados em pacientes com IMC de pelo menos 35, ou entre 30-35 quando portadores de diabetes com difícil controle por medicamentos. Em alguns grupos asiáticos com maior risco, o limite inferior de IMC poderia ser de 27,5. (DIXON et al., 2011) Em nossa casuística, 88,8% (N=8), encontravam-se com IMC entre 30-35.

Os resultados da cirurgia metabólica no controle glicêmico em pacientes obesos, superior ao tratamento clínico isolado (SCHAUER, 2012), têm estimulado a pesquisa de

diferentes técnicas visando o controle do diabetes em pacientes com $IMC < 35 \text{ kg/m}^2$, visando tornar o método cirúrgico uma alternativa terapêutica permanente para as doenças metabólicas de difícil tratamento clínico, cada vez mais prevalente na população mundial.

É importante salientar que as cirurgias bariátricas/metabólicas mais realizadas nos dias de hoje foram descritas há mais de 20 anos e projetadas para tratar obesos mórbidos. Foram idealizadas previamente ao conhecimento das alterações entero-hormonais desencadeadas pela cirurgia, sendo pautados basicamente na restrição alimentar e disabsorção. Santoro et al. descreveram procedimentos estagiados de adaptação digestiva em 2003 para tratamento de pacientes com doença metabólica, sendo que a evolução do conceito promoveu o desenvolvimento do procedimento utilizado neste estudo: a adaptação digestiva com *duodenal switch* parcial. A cirurgia inova no sentido de não excluir nenhum segmento do trânsito alimentar, diminuindo a quantidade de alimento no intestino proximal e aumentando o aporte nutricional ao intestino distal. (Ver Figura 13) O método mostrou bons resultados em pacientes obesos, quanto à perda de peso (SANTORO et al., 2006; SANTORO et al., 2008) sendo que o estudo atual analisou os resultados da técnica em pacientes acima do peso normal mas com $IMC < 35 \text{ kg/m}^2$, perante o DM2.

Na casuística do presente estudo, avaliando o resultado da cirurgia frente ao DM2, constatamos resultados bastante satisfatórios. Dos nove pacientes estudados, 6 estavam em uso de insulina regularmente, sendo que um dos pacientes da amostra havia recusado o uso do hormônio apesar da indicação do endocrinologista que o acompanhava. A utilização de insulina foi suspensa após a cirurgia, ficando os pacientes orientados a utilizar insulina regular quando necessário de acordo com o hemo-gluco teste (HGT) $> 200 \text{ mg/dl}$. Nenhum dos seis pacientes necessitou retomar a utilização de insulina durante todo o acompanhamento pós-operatório. Somente um paciente da amostra permanece em uso de hipoglicemiante oral (inibidor de dpp4), por indicação do endocrinologista, segundo o profissional, visando aprimorar a melhora metabólica, apesar dos níveis de HbA1c estarem abaixo de 7. Houve redução significativa ($p < 0,05$) nos níveis de HbA1c no pós-operatório, com média de valores abaixo de 7 no primeiro trimestre após a cirurgia, e menor que 6, um ano após o procedimento, denotando variações da glicemia satisfatória durante os intervalos de coleta para análises. A média de glicemia de jejum, um ano após a cirurgia, foi de $112,52 (\pm 12,96)$, considerada satisfatória para o acompanhamento de pacientes DM2 em tratamento. (ADA-2012) A queda dos níveis de glicose em jejum pode refletir uma diminuição da resistência insulínica de forma geral, levando à diminuição da gluconeogênese tanto hepática

(DEFRONZO, 2004) quanto intestinal (ZITOUN; MITHIEUX; BADY, 2004) Os níveis glicêmicos pós-prandiais também apresentaram reduções significativas no pós-operatório.

Ainda no Brasil, Cohen et al. (2006) mostram os resultados de 37 pacientes submetidos à BGYR por via laparoscópica e DePaula et al. (2009) mostram os resultados da técnica que envolve gastrectomia vertical e interposição ileal em 30 pacientes (ver figura 11), ambos estudos tratando pacientes com $IMC < 35 \text{ Kg/m}^2$, e mostrando uma taxa de resolução do diabetes maior que 90%.

As cirurgias metabólicas têm demonstrado diminuir a taxa de óbitos por doenças cardiovasculares em grande estudo de acompanhamento longitudinal (SJOSTRON et al., 2012), graças à melhora de comorbidades metabólicas (obesidade, hipertrigliceridemia, DM2, hipertensão arterial) que, em última instância, levam ao óbito por doenças macro e microvasculares. (ISOMAA et al., 2001) Estas comorbidades foram agrupadas e classificadas como fazendo parte de uma síndrome, que atualmente é chamada de Síndrome Metabólica. (REAVEN, 1988) A cirurgia metabólica tem sido indicada por diferentes autores como forma de tratamento dos diversos componentes da síndrome como um todo, e não somente da obesidade ou diabetes. (WILLIAMS; CUNNINGHAM; PORIES, 2012)

A resolução do DM2 através da cirurgia gastrointestinal vem sendo vastamente citada na literatura desde os primeiros relatos feitos por Friedman em 1955. No entanto, apesar da evolução das pesquisas, restam muitas dúvidas a respeito do real mecanismo antidiabético dos procedimentos cirúrgicos mais realizados. Parece claro que a modulação do comportamento secretório entero-hormonal tem papel predominante na obtenção da homeostase glicêmica (RUBINO et al., 2006; FRIED et al., 2010)

Procedimentos mais disabsortivos (maior exclusão de segmentos intestinais) têm mostrado maior capacidade de resolução do diabetes, hipertensão arterial sistêmica, hipercolesterolemia e obesidade (ver Tabela 2) Dentre as técnicas convencionais, a DBP com *duodenal switch* mostra um maior efeito antidiabético, que poderia ser justificado pelos seguintes aspectos: a gastrectomia vertical utilizada como parte da técnica, além de ter capacidade de diminuir fortemente a secreção do hormônio orexígeno grelina, também promove saciedade precoce e diminuição da ingesta alimentar. (KARAMANAKOS et al., 2008) Além disso, porções mais distais do intestino delgado são postas em contato com alimento pouco digerido, sabidamente mais efetivas em proporcionar a secreção de GLP-1, gerando assim maior saciedade e otimizando o funcionamento das células beta pancreáticas. No BGYR, o segmento posto em contato com o alimento ingerido é o jejuno, possivelmente justificando os resultados não tão expressivos quanto aos encontrados no DBP com *duodenal*

switch, quando um segmento de íleo é posto em contato direto com o alimento. De fato, tem sido sugerido que o tamanho do segmento proximal excluído (alça bilio-pancreática) tenha fundamental importância no potencial anti-diabetogênico dos procedimentos. (KAO et al., 2011) Dentro dessa linha de raciocínio, na técnica DSP, além de proceder com a gastrectomia vertical, promovendo diminuição da ingesta alimentar, ainda se põe o íleo, através de gastroíleo-anastomose em contato com o alimento ingerido via oral, otimizando desta forma a secreção entero-hormonal, principalmente de GLP-1.

É bastante defendido que a melhora do DM2 ocorre pelo desvio do trânsito alimentar do intestino proximal (*foregut hypothesis*). (RUBINO et al., 2006) Cohen (2012) desenvolveu trabalho com 35 pacientes DM2 e sobrepeso ($IMC < 30 \text{kg/m}^2$) onde realiza técnica de exclusão de apenas 50 cm do intestino proximal (duodeno e pequena porção do jejuno) de forma isolada (Figura 16) sem realizar cirurgia restritiva ao nível gástrico, seguindo modelo proposto por Rubino em 2006, quando analisou os resultados em ratos. De forma geral, houve melhora dos padrões glicêmicos no pós-operatório, com 40% dos pacientes (n=14) permanecendo sem uso de medicações hipoglicemiantes no pós-operatório. (COHEN et al., 2012)

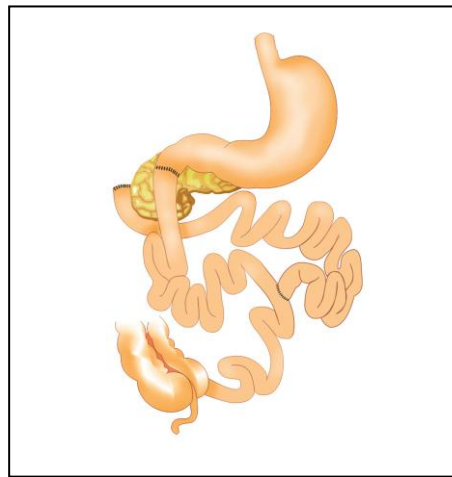


Figura 16 - Bypass duodeno jejunal sem restrição gástrica

Fonte: Arquivo pessoal do pesquisador, 2012.

Os resultados do estudo comprovam haver uma influência negativa do trânsito alimentar pelo duodeno e jejuno proximal na promoção da hiperglicemia, contudo, na cirurgia DSP utilizada nesta amostra, o resultado bastante expressivo na resolução do DM2 sem necessidade de uso de medicações hipoglicemiantes em 88,8% dos pacientes, foi obtido sem exclusão de segmentos intestinais do trânsito alimentar.

A exclusão dos segmentos intestinais do trânsito alimentar proporcionada pelas

diversas técnicas de cirurgia metabólica não é isenta de complicações. Cirurgias metabólicas com exclusão duodenal como o BGYR apresentam altos índices de déficits nutricionais como deficiência de ferro, cálcio e vitaminas com difícil manejo clínico (LOVE et al., 2008; ANGEL et al., 2008). No presente estudo, nenhum dos pacientes operados pela técnica de adaptação digestiva com DSP, apresentou déficits nutricionais, sendo que a média de hematócrito após um ano da cirurgia foi maior que 39 mg/dl (Apêndice N) sugerindo que, apesar da menor quantidade de alimento sendo absorvida pelo duodeno, não houve deficiência de absorção do elemento.

Até o momento, as hipóteses para o desfecho frente à exclusão do intestino proximal sugerem que os melhores níveis glicêmicos são obtidos em virtude da melhora da resposta incretínica pancreática ao hormônio GIP ou diminuição da secreção de fatores "anti-incretínicos" ou estimulantes da liberação do hormônio glucagon (PORIES et al., 2001; RUBINO et al., 2004; KNOP, 2009)

Nas porções iniciais do intestino, existe uma maior concentração de células K, produtoras do hormônio GIP, sugerindo que o efeito controlador da glicemia relacionado com o intestino proximal tem como cerne a ação deste entero-hormônio incretínico. No entanto, até o momento, não se conseguiu responder qual a relação entre o GIP e o metabolismo glicêmico pós-operatório, já que o comportamento do hormônio, após cirurgias metabólicas, não é uniforme, sendo evidenciada, tanto a diminuição dos seus níveis, desfecho mais encontrado em cirurgias disabsortivas, como a manutenção dos níveis, após cirurgias puramente restritivas. (RAGHAVENDRA et al., 2011)

No presente estudo, os níveis de GIP tiveram diminuição não significativa dos seus valores no período pós-operatório. A tendência a diminuição pode ser justificada tendo em vista a menor taxa de absorção de nutrientes no intestino proximal. O GIP é um hormônio primariamente secretado de acordo com a absorção do substrato (glicose, lipídeos) pelo intestino, (MIYAWAKI *et al.*, 2002) e no método cirúrgico em questão, além da diminuição da ingesta alimentar, parte do alimento é derivada para a alça ileo-gástrica, reduzindo assim o ritmo absorptivo duodenal. Ainda tem sido defendido que níveis elevados de GIP por hiperestimulação das células K, ou por down-regulação de receptores de GIP no pâncreas (LYNN et al., 2001) provocam desensibilização das células beta pancreáticas ao hormônio incretínico, sendo que o controle da glicemia tende a reverter a resistência a sua atuação. (HOJBERG et al., 2009) Nesta amostra em estudo, podemos sugerir que apesar dos menores níveis de GIP no pós-operatório, sua ação ao nível pancreático pode ter sido melhorada, já que houve correção dos níveis glicêmicos no pós-operatório.

Em importante estudo em indivíduos saudáveis, Schirra et al. (1996) avaliam as respostas incretínicas (secreção de GIP e GLP-1) após a ingestão de sobrecarga de 50 e 100 gramas de glicose, via oral, em indivíduos saudáveis. No estudo, a secreção de GIP obteve seu pico aos 15-20 minutos e se manteve elevada durante todo o período de absorção de glicose. Os picos não diferiram em intensidade em relação à maior carga de glicose com 100 g via oral mostrando um menor limiar de estímulo das células K duodenais. Os picos de secreção de GLP-1 ocorreram da mesma forma aos 20 minutos pós-ingestão de glicose. Seus níveis séricos decaíram até os níveis basais 60 minutos após ingestão de 50 g de glicose, ao passo que retornaram aos níveis basais 120 minutos após ingestão de 100 gramas, mostrando uma necessidade de um maior volume de substrato para a manutenção e prolongamento da secreção do hormônio GLP-1. O estudo sugere que o alimento precisa superar a capacidade absorptiva duodenal para alcançar porções mais distais do intestino, ricas e células L, e assim promover uma secreção entero-hormonal incretínica satisfatória. Uma taxa de perfusão de glicose no duodeno de 1,4 Kcal/min foi necessária para manter a secreção de GLP-1. O efeito incretínico desencadeado por pequenas ingestões alimentares seria realizado basicamente pelo GIP. O valor de perfusão duodenal pelo alimento ingerido sofre influência tanto da velocidade de esvaziamento gástrico quanto da capacidade de absorção do epitélio intestinal (SCHIRRA et al., 1996), sabidamente aumentado nos estados diabéticos.

Após revisão da literatura no que concerne a alterações morfo-funcionais do intestino em estados diabéticos em ratos (FUJITA et al., 1998) e humanos (VERDAM et al., 2011), crescem as evidências de que a capacidade absorptiva do epitélio intestinal nos diabéticos é aumentada, principalmente nos segmentos proximais. (SCHEDL et al., 1971)

Destaca-se nesta discussão que não foram encontradas publicações relacionando a hipertrofia do epitélio intestinal proximal, associado ao incremento de sua atividade absorptiva, com o efeito antidiabetogênico obtido pelo desvio (total ou parcial) do trânsito alimentar deste segmento nas cirurgias bariátricas/metabólicas.

De fato, a capacidade absorptiva do epitélio intestinal proximal tem importância fundamental na secreção do principal hormônio incretínico, o GLP-1. (SCHIRRA et al., 1996) Alimentos com menor digestibilidade (Ex: ricos em fibras), tendem a ser absorvidos de forma mais lenta, alcançando porções mais distais do intestino, sem promoção de picos hiperglicêmicos. (LUDWIG, 2002) Estudos em humanos saudáveis mostram que o volume de substrato ingerido deve superar a capacidade absorptiva do epitélio intestinal proximal para promover elevações sustentadas dos níveis de GLP-1. (SCHIRRA et al., 1996)

Levando em conta a dieta moderna, com base em alimentos de alto índice glicêmico

(LUDWIG et al., 2002, GROSS et al., 2004; ESFAHANI et al., 2009), associado a maior capacidade de digestão do epitélio hipertrofiado dos diabéticos, fazem do intestino proximal uma “barreira funcional” para chegada do alimento ao intestino distal. Vilsbøl defende que a diminuição de secreção incretínica intestinal no diabetes é mais uma consequência e não uma causa do DM2 (VILSBØL, 2002), podendo a hipertrofia intestinal ser uma justificativa para a menor secreção incretínica, principalmente de GLP-1, nos diabéticos.

O aumento da capacidade absorptiva no intestino proximal e sua relação com a gênese de DM2 é comprovado em estudos utilizando inibidores das dissacaridases luminiais (acarbose), desta forma diminuindo o ritmo de absorção no intestino proximal. O uso da acarbose diminui a progressão de pacientes intolerantes a glicose para o estado diabético (CHIASSON et al., 2002), aumenta a secreção de GLP-1 pós-prandial (ENÇ et al., 2001) e ainda diminui os picos hiperglicêmicos pós-prandiais, potencialmente tóxicos às células beta pancreáticas. (DONATH et al., 2004) Estudos utilizando próteses endoscópicas que impedem o contato do alimento com a mucosa do duodeno e jejuno proximal também promovem importante melhora dos níveis glicêmicos em diabéticos, podendo o resultado sugerir que a prótese auxilia o alimento a ultrapassar a “barreira absorptiva” que deixa o intestino distal “vazio” no DM2 e desta forma estimular a secreção do GLP-1. (DE MOURA et al., 2011)

Diferente estudos em humanos (SAAD et al., 1988) e em animais (FUJITA et al., 1998) descrevem a hiperglicemia pós-prandial como evento inicial no desenvolvimento do DM2. Em ratos, fica claro que o evento ocorre graças à hipertrofia da mucosa intestinal em estágios precoces do desenvolvimento da doença. (FUJITA et al., 1998)

Nesta casuística houve diminuição significativa da hiperglicemia pós-prandial ($p < 0,05$) quando comparadas às médias nos períodos jejum, 30', 60', 90', 120 min. A melhora da glicemia pós-prandial encontrada nos pacientes operados pela técnica DSP pode ser justificada, em parte, ao menor volume alimentar ingerido e ao menor volume alimentar alcançando o intestino proximal, segmento com alta capacidade absorptiva nos diabéticos, além de melhor secreção insulínica nos pacientes operados, evidenciada pelos maiores níveis séricos de peptídeo C. Houve aumento significativo ($p < 0,05$) dos níveis de peptídeo C aos 3, 6 e 12 meses quando comparados aos níveis pré-operatórios. O dado indica uma maior capacidade secretória da massa celular beta após o procedimento cirúrgico.

As células beta pancreáticas são submetidas a stress quando expostas a picos de glicemia. O mecanismo de preservação celular que leva à dessensibilização da célula beta quando exposta a altos níveis de glicose, altera o controle glicêmico em períodos de grande

demanda, evento frequente gerado pelo alto índice e carga glicêmica dos alimentos. (POITOUT et al., 2002; GROSS et al., 2004; DONG et al., 2011) Podemos, portanto, inferir que a melhora da secreção insulínica pode ser interpretada como uma melhor saúde da massa de células beta, poupadas de exposições repetidas a picos hiperglicêmicos. Realmente, em estudo recente, Speck et al. (2011) mostram uma diminuição do índice de apoptose celular beta em animais submetidos a exclusão do duodeno e jejuno proximal do trânsito alimentar.

O resultado corrobora a hipótese de que o alimento em contato com a mucosa intestinal proximal pode gerar um efeito tóxico à célula beta, podendo estar diretamente relacionado à glucotoxicidade.

Na DSP, apesar de não se excluir o segmento proximal do trânsito alimentar, promovemos uma grande diminuição dos níveis alimentares alcançando o epitélio proximal, provavelmente também diminuindo o índice de apoptose celular beta.

O entero-hormônio incretínico GLP-1, dentre várias funções, tem capacidade de melhorar a saúde da massa celular beta. (DRUCKER, 2011) Na presente amostra em estudo, através de quantificação do GLP-1 pelo método ELISA, houve aumento significativo ($p < 0,05$) de sua secreção nos pacientes operados quando avaliada a evolução dos seus níveis, através do cálculo da área sob a curva, sendo comparada à soma das áreas do período pré e pós-operatório. Atribuímos a melhora dos níveis de GLP-1 à maior quantidade de alimento alcançando o íleo, rico em células L.

O GLP-1 tem mostrado exercer importante papel anti-diabetogênico, atuando nas células beta, melhorando sua sensibilidade às variações glicêmicas assim estimulando a secreção insulínica. (BUTEAU et al., 2004) O entero-hormônio tem ainda a capacidade de aumentar a massa de células beta ativas, diminuir sua apoptose através da diminuição dos efeitos tóxicos da glicose e AGL (glucolipotoxicidade) (BUTEAU et al., 2004), além de melhorar a insulinemia pós-estímulo (DRUCKER, 2003; BAGGIO, 2007) A melhora da função celular beta de forma sustentada, às custas do efeito do GLP-1, também foi observada em estudo longitudinal avaliando pacientes em uso do agonistas do receptor de GLP-1 (exenatide) por um período de três anos (BUNCK et al., 2011)

Suas ações não são específicas ao tecido pancreático, exercendo efeito na motilidade gastrointestinal e ao nível de receptores sacietógenos centrais. (DRUCKER, 2003) No estômago, o GLP-1 diminui a velocidade de seu esvaziamento através de estímulo vagal (IMERYÜZ et al., 1997), regulando a propulsão alimentar para o duodeno, fracionando o volume alimentar que chega ao duodeno e desta forma atenuando os níveis glicêmicos regulados pela absorção de substratos nas porções iniciais do intestino. Alguns autores

defendem que a capacidade de modular o esvaziamento gástrico tenha maior influência no metabolismo glicêmico que a própria capacidade incretínica do hormônio. (MEIER et al., 2005; NAUCK et al., 1997) De forma geral, o incremento dos níveis de GLP-1, após a cirurgia bariátrica/metabólica, é obtido pela exposição do epitélio intestinal distal ao alimento pouco digerido. Na DSP, apesar de não se excluir nenhum segmento do trânsito alimentar, através da anastomose íleo-gástrica, a maior parte do conteúdo ingerido que seguiria para o duodeno é desviada para o íleo, estimulando esta porção, rica em células L.

A maior capacidade de estímulo alimentar ao intestino distal é, até o momento, a hipótese mais defendida para a melhora dos padrões glicêmicos (*hindgut hypothesis*) após a cirurgia metabólica. Com exceção de alguns autores (REINEHR et al., 2007), a grande maioria dos estudos cita a elevação dos níveis de GLP-1 sérico nos pacientes operados através de cirurgia metabólica. (BOSE et al., 2009; MASON, 1999, DEPAULA et al., 2009)

Dentre os fatores que promovem stress às células beta, o termo gluco-lipotoxicidade tem sido bastante citado na literatura (KIM et al., 2011; POITOUT et al., 2002; DEFRONZO, 2009) e se refere à toxicidade beta provocada por altos níveis de ácidos graxos durante o estado de hiperglicemia. A hipertrigliceridemia, baixas concentrações de *high density lipoprotein* (HDL) e alterações qualitativas no *low density lipoprotein* (LDL) constituem dislipidemias típicas do estado de resistência à insulina. (KHOSROW, 2008) Os triglicerídeos são importantes fontes de AGL não esterificados. O acúmulo de AGL, devido à exposição crônica, gera toxicidade e induz apoptose das células beta pancreáticas. (WEINBERG, 2006)

Na técnica de DSP, procede-se com a ressecção do omento maior buscando a diminuição do volume de gordura visceral. O acúmulo de gordura visceral com aumento da circunferência abdominal é um fator preditivo do risco cardiovascular e muitos estudos epidemiológicos têm apontado sua relação com hipertensão arterial, hipertrigliceridemia, resistência à insulina e doença aterotrombótica. (KONING et al., 2007) A gordura visceral, resistente ao efeito antilipolítico da insulina, libera grande quantidade de ácidos graxos livres (AGL) para o sistema porta (BERGMAN et al., 2001), induzindo desta forma a resistência à insulina do fígado, mantendo assim níveis elevados de gluconeogênese hepática, característico dos estados diabéticos, em detrimento dos elevados níveis glicêmicos. (DEFRONZO, 2009) A gordura visceral, em especial o grande omento, produz quantidades significantes de resistina, (MCTERNAN et al., 2002), peptídeo que age nos miócitos do músculo esquelético, hepatócitos e nos próprios adipócitos, reduzindo sua sensibilidade à insulina, sendo considerado um fator diabetogênico. A cirurgia metabólica associada à ressecção do grande omento ainda promove diminuição dos níveis de PAI-1. (SANTORO et

al., 2006) Trata-se de um inibidor primário e fisiológico da ativação de plasminogênio, o que significa ser um fator pró-coagulante, sendo que os níveis circulantes de PAI-1 são em geral mais elevados nos pacientes com doença coronária e têm papel importante no desenvolvimento de aterotrombose por diminuir a degradação de fibrina. (JUHAN-VAGUE et al., 2000) A diminuição dos seus níveis séricos são relacionadas a melhora do perfil lipídico e redução do risco cardiovascular. (CARMICHAEL et al., 2002)

Os relatos referentes à melhora metabólica após omentectomia não são unânimes na literatura (FABBRINI et al., 2010), contudo, diferentes autores, valendo-se de estudos em animais e humanos, defendem o papel da ressecção do segmento de gordura visceral como método de diminuição de resistência à insulina. (DILLARD et al., 2011)

No presente estudo, avaliou-se a evolução dos níveis de triglicerídeos séricos em jejum, no pré e pós-operatório, no sentido de avaliar mais um possível mecanismo de toxicidade às células beta. Houve diminuição significativa ($p < 0,05$) dos níveis de triglicerídeos nos três momentos do pós-operatório avaliados em relação ao período pré-operatório, sendo que os valores médios de trigliceridemia sérica, após 1 ano da cirurgia, foram de $105,78 \pm 33,02$, valores considerados normais ($< 150 \text{mg/dl}$) (SPOSITO et al., 2007) O resultado pode ser justificado graças à menor ingestão alimentar, diminuição da gordura visceral através da omentectomia e perda de peso, obtidos através da cirurgia. Além disto, na técnica cirúrgica DSP, procede-se com ressecção de parte do intestino delgado proximal. O intestino delgado, em estados de resistência insulínica, tem sido descrito, assim como o fígado, como importante produtor de apolipoproteínas e lipídeos ricos em ácidos graxos, principalmente no período pós-prandial, mas inclusive em jejum, fazendo com que o órgão seja valorizado não somente por sua capacidade absorptiva, mas também pelo seu papel no metabolismo lipídico. (KHOSROW, 2008). Milléo et al. (2006), em estudo comparativo entre duas técnicas cirúrgicas para tratamento de pacientes obesos, o BGYR e a gastroentero-omentectomia adaptativa, mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao controle da hipertrigliceridemia pós-prandial no grupo com ressecção intestinal.

Como citado, a exposição prolongada a altos níveis de ácidos graxos pode proporcionar efeitos deletérios à célula beta, diminuindo a expressão de genes envolvidos na síntese de insulina e, além disso, podendo induzir apoptose de células beta. (KIM et al., 2011) O papel benéfico da ressecção intestinal foi recentemente estudado por Kopsombut *et al.*, onde a enterectomia, associada ou não à gastrectomia vertical em ratos Zucker Fatty, foi capaz de melhorar a sensibilidade insulínica, além de aumentar os níveis de adiponectina sérica. Maiores níveis de adiponectina têm sido correlacionados positivamente com a

diminuição da resistência à insulina. (KOPSOMBUT et. al., 2012) O potencial colesterogênico do intestino pode ser mostrado também em estudo avaliando a hipertrofia intestinal provocado pelo diabetes em ratos. Ratos com maior massa intestinal também mostram diferença significativa em relação aos níveis de colesterol séricos quando comparados aos controles. (FUJITA et al., 1998)

Heap e Cummings (2008) avaliam o papel da ressecção intestinal em 267 pacientes obesos, tratados por ressecção lateral do estômago e enterectomia. Os autores enaltecem a técnica na obtenção de perda de peso e diminuição da resistência insulínica, sem exclusão de segmentos intestinais e com baixos índices de complicações nutricionais, sendo os resultados bastante semelhantes aos obtidos por Santoro e cols. (2008) A ressecção intestinal com um segmento remanescente com mais de 300 cm como é procedido na DSP não gera desnutrição tendo em vista que o trato digestivo, perante os padrões da dieta atual, tem capacidade de reserva absorptiva alta. Não existem relatos de insuficiência absorptiva com segmentos intestinais com estas dimensões, principalmente quando se preserva o duodeno e o íleo terminal. Scolápio (2001) sugere que apenas 50 cm de intestino delgado são suficientes para a nutrição oral adequada, se uma parte do íleo for preservada e o cólon estiver completamente íntegro. Estudo de Milléo e cols (2011) mostra a evolução de pacientes submetidos à enteromentectomia adaptativa com segmento pós-operatório de 3 anos. Não houve distúrbios nutricionais na amostra estudada.

À luz dos conhecimentos descritos, fica claro que a melhora do DM2 após a cirurgia metabólica é obtida graças a uma interconexão dinâmica entre os princípios da teoria do intestino anterior e posterior que, em última análise, levam a melhor efetividade, principalmente do pâncreas, em controlar o metabolismo glicêmico. De forma abreviada, pode-se hipotetizar que o efeito da exclusão total ou parcial das porções intestinais proximais no diabetes, seja protetor às células beta, pois diminui os picos hiperglicêmicos pós-prandiais potencialmente tóxicos, principalmente quando se leva em conta o volume alimentar disponível e a carga glicêmica encontrada nos alimentos tradicionais. Além disto, as táticas cirúrgicas bariátricas/metabólicas geralmente trazem o intestino distal para o contato com alimentos menos digeridos, aumentando os níveis de hormônios incretínicos, anorexígenos e anti-lipogênicos, assim promovendo os princípios do intestino posterior. Sendo assim, ambos os princípios se complementam.

No sentido de analisar o comportamento genético das células intestinais de pacientes diabéticos, Artoni et al. (2009) (Anexo 1) analisaram através de estudo de *microarray* de todo o genoma humano o comportamento genético das células intestinais (íleo distal) de pacientes

diabéticos antes e após a cirurgia de entero-omentectomia (MILLEO et al., 2011), visando ao tratamento do DM2, sem componente restritivo ao nível gástrico. A análise mostrou que, após o controle cirúrgico do DM2, uma variação mais evidente na expressão de genes envolvidos em vias metabólicas relacionadas à morte celular, controle de expressão gênica e resposta imune celular (Anexo 2), estando as vias dos genes p53, MYC e TNF em destaque.

Em estudo de Ye e cols. analisando o comportamento genético de células prostáticas em animais e humanos diabéticos comparados aos controles não diabéticos, identificou-se através de estudo por *microarray* um grupo de genes diferencialmente expressos no estado diabético, sendo destacadas vias relacionadas ao controle do ciclo celular. No estudo, houve *downregulação* do gene p53, sendo sugerido que o DM2 possa induzir a diminuição da expressão do gene (YE et al., 2011) Assumindo um mesmo comportamento do gene ao nível dos enterócitos em diabéticos e tendo conhecimento sobre o papel do p53 no controle negativo do epitélio intestinal, podemos especular que a hipertrofia intestinal diabética esteja relacionada à menor regulação do crescimento epitelial pelo gene *downregulado*.

No estudo atual, avaliamos a expressão do gene p53, na mucosa do intestino proximal (duodeno) e distal (íleo) em pacientes diabéticos submetidos à cirurgia metabólica. A análise da expressão de gene p53, através do método rt-PCR, mostrou um aumento da expressão relativa do gene em relação ao seu controle interno 18S, nos dois pontos estudados, sendo a diferença entre o período pré-operatório e o pós-operatório comparadas. O gene p53 sofreu um incremento significativo ($p < 0,05$) no período pós-operatório, ao nível do duodeno quando avaliado por rt-PCR. Ao nível do intestino distal (íleo), o exame de rt-PCR mostrou uma tendência de aumento de sua expressão, contudo, sem significância estatística ($p = 0, 1$) Na análise da expressão em seu nível proteico (pós-traducional), somente o experimento com amostras de íleo obtiveram sucesso, mostrando também uma forte tendência de aumento, sem contudo apresentar diferença significativa ($p = 0, 1$), assim como no rt-PCR. O resultado está de acordo com os dados obtidos por Ye et al. quando mostra diminuição da expressão do gene p53 em tecido prostático de diabéticos. Entendemos que a análise deve prosseguir, devendo ser calculada a expressão diferencial do gene p53 relativa a outros controles internos, no sentido de diminuir vieses referente ao método e assim consolidar a informação. (KIDD et al., 2007; LIVAK et al., 2001)

Ressecções e derivações intestinais que geram disabsorção tendem a promover fenômenos adaptativos do epitélio remanescente, geralmente evidenciado por aumento do tamanho dos vilos intestinais. Diferentes estudos têm mostrado que este fenômeno adaptativo é independente do gene p53, excluindo desta forma um importante fator de confundimento no

resultado da expressão do gene em nossa amostra de estudo que, apesar de não haver segmentos exclusivos, foi submetida à ressecção intestinal. (SHIN et al., 1999; LAURONEN et al., 2005)

O controle satisfatório do quadro de DM2 nos nove pacientes operados permite inferir que a análise do comportamento do gene se dá no estado diabético, comparado ao estado não diabético, sendo os controles positivos os próprios pacientes submetidos à intervenção.

O mecanismo molecular regulador do crescimento epitelial intestinal ainda não é completamente conhecido. Métodos experimentais utilizando a oferta ou depleção de poliaminas são bastante utilizados tendo em vista o bem estabelecido potencial regulador destas moléculas na modulação do crescimento intestinal. (WANG et al., 2007)

Poliaminas são policações e, portanto, uma de suas principais características é interagir com moléculas carregadas negativamente, como o DNA, RNA ou proteínas. Estão envolvidas em mecanismos de crescimento, sobrevivência e proliferação celular. Em células cancerosas são encontradas grandes quantidades de poliaminas, sendo esta relação bastante pesquisada. (SEILER et al., 1990) Cada vez mais se dá valor às poliaminas de fontes extracelulares, particularmente provenientes da dieta e de bactérias residentes no trato gastrointestinal para a homeostasia do epitélio intestinal. (LÖSER et al., 1999) Sua função mais importante reside no fato de serem mediadores da ação de fatores de crescimento. A captação de poliaminas pelo intestino parece ser literalmente dependente da quantidade ingerida (BARDOCZ et al., 1995), podendo a hiperfagia ser um fator de aumento do seu aporte. As concentrações de poliaminas no lúmen duodenal e jejunal se elevam até 2 horas após ingestão alimentar para, na sequência, regredirem aos níveis basais. (RAO et al., 2010)

Existe uma correlação direta entre a quantidade de poliaminas celulares e a expressão do p53 na mucosa, tornando a via metabólica do p53 um foco para nossas pesquisas em busca da relação entre o gene e doenças metabólicas relacionadas ao trato digestivo. A deficiência ou diminuição dos níveis de poliaminas celulares estimula expressão e estabilização de genes envolvidos na interrupção do ciclo celular e apoptose como o p53, contudo, preservando níveis de genes estimuladores do crescimento estáveis. (WANG et al., 2007; LI et al., 1999)

O crescimento do epitélio intestinal exagerado nos diabéticos tem sido bastante relatado nas últimas décadas, sendo citado como evento precoce no desenvolvimento do distúrbio. É sugerido que o processo hipertrófico ocorre devido a inibição da apoptose celular (NODA et al., 2001) Essa correlação entre crescimento epitelial, p53 e diabetes se torna pertinente ao presente estudo, já que se propôs avaliar a expressão do gene em dois momentos diferentes: pré e pós- cirurgia metabólica ou, como já inferido previamente, em um estado

hiperglicêmico e outro normoglicêmico.

O desenho do estudo atual não permite a avaliação da resposta da mucosa intestinal antes e após o controle do DM2, contudo, resultados de experimentos em animais ajudam a prever o comportamento do epitélio intestinal após o controle do diabetes. A reversão da hiperglicemia ou por transplante de ilhotas pancreáticas ou por reposição insulínica reverte a hipertrofia intestinal típica do diabetes. (OSBORNE et al., 2000) Podemos inferir que a reversão da hipertrofia possa ter relação direta com o nível de expressão do p53 na mucosa. A afirmação se torna pertinente se levarmos em conta que os níveis de p53 e poliaminas apresentam uma relação diretamente inversa no epitélio intestinal (ver Figura 8). Além disso, a inibição da síntese de poliaminas associado a dieta pobre em poliaminas, impede o crescimento epitelial em ratos não diabéticos (LÖSER et al., 1999), assim como impede o desenvolvimento da hipertrofia intestinal característica em ratos induzidos ao diabetes por STZ intraperitoneal (PAREKH et al., 1998), comprovando o papel fundamental das poliaminas na regulação do crescimento do epitélio intestinal normal e na hipertrofia intestinal diabética.

Nesse contexto, podemos hipotetizar que o aumento do p53 na mucosa intestinal dos pacientes submetidos a DSP nesta amostra tenha uma relação direta com o trofismo negativo na mucosa após o controle do diabetes, já que o diabetes tem sido indicado como um downregulador do gene. A downregulação do p53 nos diabéticos pode também explicar parcialmente a maior incidência de câncer nesta população, possivelmente devido a menor atividade supressora tumoral. (YE et al., 2011)

O gene p53, dentre múltiplas funções, participa de forma direta do metabolismo da glicose, tendo em vista sua capacidade de inibir a expressão de receptores de insulina na membrana celular (WEBSTER et al., 1996), assim como, diminuir a expressão de receptores GLUT4. (SCHWARTZENBERG-BAR-YOSEPH et al., 2004) As ações do gene diminuem assim, a utilização de glicose pela célula. Menores níveis de p53 favorecem a expressão de receptores insulínicos de membrana.

O receptor de insulina pertence a uma família de receptores tirosina quinase que inclui o *insulin growth factor-1 receptor* (IGF-1R). Por sua analogia estrutural ao receptor de insulina, o IGF-1 tem capacidade de estimular o receptor de insulina, assim como a insulina tem capacidade de estimular o IGF-1R. (CINTRA et al., 2011)

A transmissão de sinais extracelulares de proliferação e diferenciação para o intracelular é mediado por uma cascata sinalizatória que culmina na via de proteínas kinases MAPK (*mitoten-activated protein kinase*). Nesse contexto, é bastante evidente o papel das

vias Ras/MAPK e PI3K/Akt no estímulo de crescimento tecidual. A ativação dos receptores de insulina exerce efeito trófico no tecido alvo, sendo que o mecanismo é mediado pela estimulação da via das MAPK. A cascata da MAPK é ativada pela sua fosforilação em serina pela proteína sinalizatória *Ras* (Ras/MAPK). O bloqueio farmacológico desta via inibe a ação da insulina no crescimento celular. (CINTRA et al., 2011)

A proteína TGF-beta tem ação inibitória sobre o estímulo proliferativo gerado pela via Ras/MAPK sendo que o p53 foi recentemente indicado como elo de integração entre a ação inibitória do TGF-beta e a via Ras/MAPK. A ação do TGF-beta ocorre mais especificamente através da ativação de proteínas Smads. (CORDENONSI et al., 2007) Além disso, observações recentes revelam que o p53 também tem capacidade de suprimir a via PI3K/AKT em tecido hepático (DERDAK et al., 2011)

Dando sequência aos estudos das vias metabólicas que influenciam o crescimento epitelial intestinal relacionados ao aporte de poliaminas, Liu et al., utilizando cultura de células intestinais, descrevem que o efeito inibitório dos menores níveis de poliaminas é determinado, em parte, pela ativação de complexos de proteínas Smad após ativação de receptores TGF-beta (LIU et al., 2003) Os achados do estudo de Cordenonsi et al., publicados em 2007, citados acima, vieram para estabelecer o papel do p53 como elo de integração entre a via TGF-beta/Smad e a via Ras/MAPK na regulação negativa do epitélio intestinal. (CORDENONSI et al., 2007; LIU et al., 2003) É importante ressaltar que, tanto genes reguladores das proteínas Smad, quanto da via MAPK e PIK3 foram diferencialmente expressos na mucosa intestinal na via metabólica do p53 (Artoni et al., 2009) (ver Anexo 2) de pacientes submetidos a cirurgia de entero-omentectomia com controle do diabetes após a cirurgia.

Apesar do trato gastrointestinal não ser um tecido alvo habitual para a insulina na idade adulta, durante o período de amamentação, o epitélio intestinal apresenta alta sensibilidade aos níveis do hormônio. A insulina está presente no colostro e leite de humanos e receptores de insulina estão presentes tanto na porção luminal quanto membrana basolateral dos enterócitos. Os dados sugerem um potencial papel do hormônio no crescimento e desenvolvimento do intestino. (BUTS et al., 1990, MARANDI et al., 2001) A ligação da insulina a receptores de membrana, além de estimular o crescimento celular, estimula ainda a expressão do complexo sucrase-isomaltase, evento mediado pela ativação da via MAPK. Através de estudos em ratos, é sugerido que a sinalização insulínica possa ser responsável tanto pelas alterações hipertróficas que ocorrem no intestino quanto no aumento da expressão do complexo SI, aumentando a capacidade digestiva do epitélio em quadros diabéticos.

(ADACHI et al., 2003; LIU et al., 2011)

Sukhotnik et al. (2011), analisando o efeito da administração de insulina via oral no crescimento da mucosa intestinal em ratos induzidos ao diabetes com STZ, mostram que a insulina via oral, de forma paradoxal, diminuiu o *turnover* celular e reverteu a hipertrofia intestinal produzida pelo diabetes. Sugerimos neste trabalho que o efeito possa ser causado pela modulação para baixo da expressão de receptores de membrana para insulina.

O p53 também tem o potencial de diminuir a expressão do receptor de IGF-1, envolvido diretamente no estímulo a divisão celular. (HAIM et al., 1996) Pode-se ainda hipotetizar que o aumento da expressão de receptores de insulina e IGF, estimulado pela menor expressão do p53 no diabetes, seriam fatores predisponentes ao maior crescimento do epitélio intestinal no estado diabético.

Não se sabe ao certo o que promove a hipertrofia do epitélio intestinal, contudo, a hipertrofia mais proeminente no intestino proximal sugere haver um papel primordial da alimentação na gênese do processo hipertrófico (SCHEDL et al., 1971; MILLER et al., 1977) Noda et al. (2001), em estudo com ratos diabéticos hipoinsulinêmicos, sugere que a hiperfagia foi fundamental para a hipertrofia da mucosa intestinal tendo em vista que o desfecho não foi encontrado nos ratos com restrição alimentar. Estudos em células cancerosas indicam que a restrição dietética diminui de forma contundente o crescimento tumoral, tendo em vista que a restrição dietética diminui os níveis de IGF-1 circulantes. (DUNN et al., 1997) A modulação do nível de expressão de receptores de IGF-1 relacionados à dieta não segue o mesmo padrão nos diferentes tecidos, sendo que no jejum pode haver uma relação descoordenada entre a expressão de receptores e a oferta de IGF. (LOWE et al., 1989) A maior expressão de receptores de membrana para IGF-1, associada ao maior aporte do fator de crescimento pela hiperfagia, poderiam justificar o maior crescimento da mucosa intestinal nos diabéticos.

No entanto, a relação entre hiperfagia e hipertrofia mucosa não é unânime. Miller et al., em estudos com animais diabéticos e controles (*pair-fed*), descrevem que a hipertrofia ocorre em segmentos mais proximais do intestino e que está mais relacionada com o tempo de vida aumentado das células, prolongando o seu tempo na fase de migração até a porção distal dos vilos e à maior síntese de DNA, sendo que o papel da ingestão alimentar pareceu ser mínimo. (MILLER et al., 1977)

Níveis elevados de stress oxidativo celular tendem a ativar e mobilizar mecanismos de defesa celular, dentre eles, o p53 tem papel primordial. A proteína pode tanto ter papel antioxidante como em casos mais extremos, progredir com o dano oxidativo e levar a morte celular. (VOUSDEN et al., 2009) Estudos em humanos mostram que a alimentação,

principalmente à base de gorduras, aumenta o stress oxidativo celular. Ingestão de lipídeos gera mais stress oxidativo que a mesma carga de açúcar em indivíduos normais. Ingestas repetidas de dietas ricas em lipídeos e carboidratos levam não somente ao aumento do stress oxidativo quanto da resistência à insulina. (BLOOMER, 2010; LIM et al., 2011) As cirurgias bariátricas têm se mostrado capazes de melhorar tanto a resistência a insulina quanto os níveis de stress oxidativo. (SCOTT et al., 2011; BOESING et al., 2010)

Nesse contexto e, de acordo com o exposto sobre a expressão do p53 e stress oxidativo celular, além da capacidade da cirurgia em diminuir o stress oxidativo, seria esperada uma diminuição da expressão do p53 na mucosa intestinal no pós-operatório de pacientes submetidos à cirurgia DSP. Contudo, conforme descrito, houve um aumento significativo da expressão do gene na mucosa do intestino proximal quando avaliado em seu estado transcricional. Pode-se especular que o nível de stress oxidativo no enterócito não é suficiente para alterar a expressão do gene. Já em tecido muscular de ratos diabéticos, a diminuição do stress oxidativo obtido através de exercício físico é capaz de diminuir os níveis de p53 na célula (QI et al., 2011), sugerindo haver uma diferença de comportamento do gene nos diferentes tipos celulares.

6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 Conclusão

A cirurgia de adaptação digestiva com duodenal *switch parcial* foi considerada eficiente em controlar o DM2 em pacientes com $IMC < 35 \text{ kg/m}^2$, através da análise dos parâmetros do metabolismo da glicose: glicemia de jejum, glicemia pós-prandial e níveis de hemoglobina glicada. O procedimento cirúrgico foi ainda capaz de normalizar os níveis de trigliceridemia sérica em jejum.

Houve aumento significativo dos níveis séricos de GLP-1, tanto em jejum quanto no período pós-prandial, quando comparados os momentos pré e pós-operatórios. Houve uma tendência de diminuição dos níveis do hormônio GIP no pós-operatório, sendo a diferença não significativa.

Houve aumento da expressão do gene p53 na mucosa intestinal após a cirurgia DSP. Quando analisado pelo método RT-PCR, houve aumento significativo no duodeno e uma tendência de aumento no íleo. A análise da expressão do gene ao nível protéico pelo método *western blot* mostrou uma tendência de aumento no íleo, sendo que a análise referente à mucosa duodenal resultou insatisfatória, não podendo concluir o nível da proteína nesse segmento.

6.2 Considerações finais

O resultado da cirurgia de adaptação digestiva com duodenal *switch parcial* no controle do diabetes foi bastante contundente na amostra em estudo, mostrando uma taxa de resolução alta do DM2 com grande parte dos pacientes apresentando hemoglobina glicada menor que 6 no acompanhamento. O resultado bastante satisfatório pode ser devido à adequada seleção dos pacientes que se beneficiarão do método.

Poucos estudos na literatura relatam o papel da cirurgia metabólica em pacientes com $IMC < 35$, devendo a pesquisa nesse âmbito ser estimulada para serem definidos protocolos de seleção adequados, visando oferecer uma alternativa terapêutica para pacientes com difícil controle do DM2 através do tratamento clínico. Tendo em vista ainda haver muitas dúvidas em relação aos mecanismos de melhora do DM2 após cirurgias com exclusão do duodeno e

jejuno proximal, este estudo, através de revisão da literatura, procura estabelecer um vínculo entre a teoria do intestino anterior ou *foregut hypothesis* e a hipertrofia do epitélio intestinal no diabetes. Além disto, mostrando um aumento significativo da expressão do gene p53 na mucosa do intestino proximal, após o controle cirúrgico do diabetes, o estudo tenta estabelecer uma possível relação entre o gene e a regulação do crescimento epitelial no diabetes, devendo haver um prosseguimento da linha de pesquisa para determinar a via metabólica pela qual o p53 é influenciado pelo metabolismo da glicose.

REFERÊNCIAS

- Ackerman NB. Observations on the improvements in carbohydrate metabolism in diabetic and other morbidly obese patients after jejunoileal bypass. *Surg Gynecol Obstet.* 1981;152(5):581-613.
- ADA - American diabetes association. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Diabetes Care*, 2012, 35, Supplement 1, S64-S71.
- Adachi T, Mori C, Sakuria K, Shihara N, Tsuda K, Yasuda K. Morphological changes and increased sucrase and isomaltase activity in small intestines of insulin-deficient and type 2 diabetic rats. *Endocrine Journal*, 2003 50;3271-79.
- Aguilar RB. Evaluating treatment algorithms for the management of patients with type 2 diabetes mellitus: a perspective on the definition of treatment success. *Clin Ther.* 2011 Apr;33(4):408-24.
- Ahn SM, Pomp A, Rubino RF. Metabolic surgery for type 2 diabetes. *Ann. N.Y. Acad. Sciences.* 2010;1212:E37-E45.
- Akkari E. Deciphering the Sleeve Gastrectomy: technique, indications, efficacy, and safety of sleeve gastrectomy. *Obes Surg.* 2008;18:1323-29.
- Angel G et al. Prevalence of Iron, Folate, and Vitamin B12 Deficiency Anemia After Laparoscopic Roux-en-Y Gastric Bypass. *Obes Surg.* 2008;18:288-293.
- Artoni RF e cols. *Material do Grupo de Pesquisa em Diabetes/Cirurgia Metabólica da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva*, 2009.
- Astrup A, Finer N. Redefining type 2 diabetes: 'diabesity' or 'obesity dependent diabetes mellitus'? *Obes Rev.* 2000 Oct;1(2):57-9.
- Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology.* 2007;132; 2131-57.
- Baker MT. The history and evolution of bariatric surgical procedures. *Surg Clin North Am.* 2011 Dec;91(6):1181-201, viii. Epub 2011 Oct 2.
- Bardocz S, Duguid T J, Brown DS, Grant G, Pusztai A, Ralph A. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. *British Journal of Nutrition* 1995;73;819-28.
- Bergman RN, Van Citters GW, Mittelman SD, Dea MK, Hamilton-Wessler M, Kim SP, Ellmerer M. Central role of the adipocyte in the metabolic syndrome. *J Investig Med.* 2001 Jan;49(1):119-26.
- Bhor VM, Raghuram N, Sivakami S. Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004 Jan;36(1):89-97.
- Bloomer R J, Kabir M M, Marshall K E, Canale R E, Farney T M. Postprandial oxidative stress in response to dextrose and lipid meals of differing size. *Lipids in Health and Disease.* 2010; 9:79.

- Boesing F, Moreira EAA, Wilhelm-Filho D, Vigil SVG, Parizotto EB et al. Roux-en-Y bypass gastroplasty: makers of oxidative stress 6 months after surgery. *Obes Surg.* 2010; 20:1236-44.
- Bose M, Oliván B, Teixeira J, Pi-Sunyer FX, Laferrère B. Do Incretins play a role in the remission of type 2 diabetes after gastric bypass surgery: What are the evidence? *Obes Surg.* 2009 Feb;19(2):217-29.
- Buchwald H, Estok R, Fahrbach K et al. Weight and type 2 diabetes after bariatric surgery: systematic review and meta-analyses. *The Journal of Medicine.* 2004;122(3):248-256.
- Buchwald H, Oien DM. The Metabolic/bariatric surgery worldwide 2008. *Obes Surg.* 2009;19:1605-11.
- Bunck MC, Corner A, Eliasson B, Heine R, Shaginian RM, Taskinen MR, Smith U, Yki-Jarvinen H, Diamant M. Effects of exenatide on measures of beta cell function after 3 years in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2011; 34:2041-47.
- Burgdorf KS, Grarup N, Justesen JM, Harder MN, Witte DR, Jørgensen T, Sandbæk A, Lauritzen T, Madsbad S, Hansen T. DIAGRAM Consortium, Pedersen O. Studies of the Association of Arg72 Pro (polimorfismo do codon 72) of Tumor Suppressor Protein p53 with Type 2 Diabetes in a Combined Analysis of 55;521 Europeans. *PLoS One.* 2011 Jan 20;6(1):e15813.
- Buteau J, El-Assaad W, Rhodes CJ, Rosenberg L, Joly E, Prentki M. Glucagon-like peptide-1 prevents beta cell glucolipotoxicity. *Diabetologia.* 2004 May;47(5):806-15. Epub 2004 Apr 17.
- Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta cell deficit and increased beta cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003; 52:102-110.
- Buts JP, De Keyser N, Kolanowski J, and Van Hoof F. Hormonal regulation of the rat small intestine: responsiveness of villus and crypt cells to insulin during the suckling period and unresponsiveness after weaning. *Pediatr Res.* 1990;27:161-164.
- Cabrera EJ, Valezi AC, Delfino VDA, Lavado EL, Barbosa DS. Reduction in plasma levels of inflammatory and oxidative stress indicators after roux-en-y gastric bypass. *Obes Surg.* 2010;20:42-9.
- Carmichael AR, Tate G, King RF, Sue-Ling HM, Johnston D. Effects of the Magenstrasse and Mill operation for obesity on plasma plasminogen activator inhibitor type 1, tissue plasminogen activator, fibrinogen and insulin. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2002 Jan-Feb;32(1):40-3.
- Cheung EC, Vousden KH. The role of p53 in glucose metabolism. *Curr Opin Cell Biol.* 2010 Apr;22(2):186-91.
- Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M. Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *The Lancet.* 2002;359:15.2072-76.
- Cintra DE, Ropelle ER, Pauli J. Obesidade e diabetes: fisiopatologia e sinalização celular. São Paulo: Sarvier, 2011.
- Cohen R, Caravatto PP, Correa JL, Noujaim P, Petry TZ, Salles JE, Schiavon CA. Glycemic control after stomach-sparing duodenal-jejunal bypass surgery in diabetic patients with low body mass index. *Surg Obes Relat Dis.* 2012 Feb 2. [Epub ahead of print]

Cohen R, Pinheiro JS, Correa JL, Schiavon CA. Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for BMI < 35 kg/m²: a tailored approach. *Surg Obes Relat Dis*. 2006 May-Jun;2(3):401-4.

Cordenonsi M, Montagner M, Adorno M, Zacchigna L, Martello G, Mamidi A, Soligo S, Dupont S, Piccolo S. Integration of TGF-beta and Ras/MAPK signaling through p53 phosphorylation. *Science*. 2007 Feb 9;315(5813):840-3.

Crenn P, Messing B, Cynober L. Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clin Nutr*. 2008 Jun;27(3):328-39. Epub 2008 Apr 28.

Creutzfeldt W, Nauck M: Gut hormones and diabetes mellitus. *Diabetes Metab Ver*. 1992; 8:149-177.

Cummings DE. Endocrine mechanisms mediating remission of diabetes after gastric bypass surgery. *International Journal of Obesity*. 2009; 33:S33-S40.

Dahly EM, Gillingham MB, Guo Z, Murali SG, Nelson DW, Holst JJ, Ney DM. Role of luminal nutrients and endogenous GLP-2 in intestinal adaptation to mid-small bowel resection. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003; 284:G670-82.

DCCT Research Group. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329:977-86.

De Moura EG, Orso IR, Martins Bda C, Lopes GS, de Oliveira SL, Galvão-Neto Mdos P, Mancini MC, Santo MA, Sakai P, Ramos AC, Garrido-Júnior AB, Halpern A, Cecconello I. Improvement of insulin resistance and reduction of cardiovascular risk among obese patients with type 2 diabetes with the duodenojejunal bypass liner. *Obes Surg*. 2011 Jul;21(7):941-7.

DeFronzo RA. From the triumvirate to the ominous octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*, 2009; 58:773-795.

DeFronzo RA. Lilly Lecture: The triumvirate: Beta cell, muscle, liver: a collusion responsible for NIDDM. *Diabetes*. 1988;667-87.

DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin N Am*. 2004;88:787-835.

DePaula AL, Macedo ALV, Schraibman V. Hormonal evaluation following laparoscopic treatment of type 2 diabetes mellitus patients with BMI 20-34. *Surg Endosc*. 2009; 23:1724-32.

Derdak Z, Lang CH, Villegas KA., Tong M, Mark NM, de la Monte SM, Wands JR. Activation of p53 enhances apoptosis and insulin resistance in a rat model of alcoholic liver disease. *Hepatology*. 2011 Jan; 54(1): 164-172.

Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature*. 2006 Dec 14;444(7121):881-7.

Dillard TH, Purnell JQ, Smith MD, Raum W, Hong D, Laut J, Patterson EJ. Omentectomy added to Roux-en-Y gastric bypass surgery: a randomized, controlled trial. *Surg Obes Relat Dis*. 2011 Oct 19. [Epub ahead of print].

Dixon JB., Zimmeta P, Albertib K G, Rubino F. Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2

diabetes. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. 2011;7:433-447.

Donath MY, Gross DJ, Cerasi E, Kaiser N. Hyperglycemia-induced beta cell apoptosis in pancreatic islets of psammomys obesus during development of diabetes. *Diabetes*. 1999; 48:738-744.

Donath MY, Halban PA. Decreased beta-cell mass in diabetes: significance, mechanisms and therapeutic implications. *Diabetologia*. 2004; 47:581-89.

Dong JY, Zhang L, Zhang YH, Qin LQ. Dietary glycaemic index and glycaemic load in relation to the risk of type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Br J Nutr*. 2011 Dec;106(11):1649-54. Epub 2011 Sep 29.

Drucker DJ. Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis. *Endocrinology*. 2003 Dec;144(12):5145-8.

Druker DJ. Incretin-based therapy and the quest for sustained improvements in beta cell health. *Diabetes care*. 2011;34:2133-35.

Dunn SE, Kari FW, French J, Leininger JR, Travlos G, Wilson R, Barrett JC. Dietary restriction reduces insulin-like growth factor I levels, which modulates apoptosis, cell proliferation, and tumor progression in p53-deficient mice. *Cancer Res*. 1997 Nov 1;57(21):4667-72.

Elahi D, McAloon-Dyke M, Fukagawa NK, Meneilly GS, Sclater AL, Minaker KL, Habener JF, Andersen DK. The insulinotropic actions of glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) and glucagon-like peptide-1 (7-37) in normal and diabetic subjects. *Regulatory peptides*. 1994;51:63-74.

Elliott RM, Morgan LM, Tredger JA. Glucagon-like peptide-1 (7–36) amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion patterns. *J Endocrinol*. 1993;138: 159-166.

Enç FY, Imeryuz N, Akin L, Turoglu T, Dede F, Haklar G, Tekesin N et al. Inhibition of gastric emptying by acarbose is correlated with GLP-1 response and accompanied by CCK release. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001; 281:G752-G763.

Esfahani A, Wong JM, Mirrahimi A, Srichaikul K, Jenkins DJ, Kendall CW. The glycemic index: physiological significance. *J Am Coll Nutr*. 2009 Aug; 28 Suppl:439S-445S. Review.

Fabbrini E, Tamboli RA, Magkos F, Marks-Shulman PA, Eckhauser AW, Richards WO, Klein S, Abumrad NN. Surgical removal of omental fat does not improve insulin sensitivity and cardiovascular risk factors in obese adults. *Gastroenterology*. 2010 Aug;139(2):448-55. Epub 2010 May 7.

Farilla L, Bulotta A, Hirshberg B, Li Calzi S, Khoury N, Noushmehr H, Bertolotto C, Di Mario U, Harlan DM, Perfetti R. Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *Endocrinology*. 2003 Dec;144(12):5149-58.

Fried M, Ribaric G, Buchwald JN, Svacina S, Dolezalova K, Scopinaro N. Metabolic surgery for the treatment of type 2 diabetes in patients with BMI<35 kg/m²: an integrative review of early studies. *Obes Surg*. 2010; 20:776-790.

Fujita Y, Kojima H, Hidaka H, Fujimiya M, Kashiwagi A, Kikkawq R. Increased intestinal glucose

absorption and postprandial hyperglycemia at the early step of glucose intolerance in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Diabetologia*. 1998;41:1459-1466.

Ganong WF. *Review of Medical Physiology*. 19th edn. East Norwalk, CT, USA; Appleton & Lange, 1999.

Gaulton KJ, Willer CJ, Li Y, Scott LJ, Conneely KN, Jackson AU, Duren WL, Chines PS, Narisu N, Bonnycastle LL, Luo J, Tong M, Sprau AG, Pugh EW, Doheny KF, Valle TT, Abecasis GR, Tuomilehto J, Bergman RN, Collins FS, Boehnke M, Mohlke KL. Comprehensive association study of type 2 diabetes and related quantitative traits with 222 candidate genes. *Diabetes*. 2008 Nov;57(11):3136-44.

Gluckman PD, Hanson MA, Beedle AS. Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. *Am J Hum Biol*. 2007 Jan-Feb;19(1):1-19. Review.

Godlewski MM, Hallay N, Bierla JB, Zabielski R. Molecular Mechanism of programmed cell death in the gut epithelium of neonatal piglets. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2007.58 Supp3:97-113.

Gottlieb E, Vousden KH. p53 Regulation of Metabolic Pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010 Apr;2(4):a001040.

Gromada J, Holst JJ, Rorsman P. Cellular regulation of islet hormone secretion by the incretin hormone glucagon-like peptide 1. *Flugers Arch*. 1998; 435:583-594.

Gross JL, Silverio SP, Camargo JL et al. Diabetes Mellito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2002;46:16-26.

Gross L S, Li L, Ford E S, Liu S. Increased consumption of refined carbohydrates and the epidemic of type 2 diabetes in the United States: an ecologic assessment. *Am J Clin Nutr*. 2004 May;79(5):774-9.

Hall PA, Coates PJ, Ansari B, Hopwood D. Regulation of cell number in the mammalian gastrointestinal tract: the importance of apoptosis. *Journal of cell science*. 1994; 107:3569-3577.

Halverson JD, Kramer J, Cave A. Altered glucose tolerance, insulin response, and insulin sensitivity after massive weight reduction subsequent to gastric bypass. *Surgery*. 1982; 92(2):235-40.

Hansen L, Hartmann B, Bisgaard T, Mineo H, Jørgensen PN, Holst JJ. Somatostatin restrains the secretion of glucagon-like peptide-1 and -2 from isolated perfused porcine ileum. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000 Jun;278(6):E1010-8.

Hass BS, Hart RW, Lu MH, Lyn-Cook BD. Effects of caloric restriction in animals on cellular function, oncogene expression, and DNA methylation in vitro. *Mutation research* 1993, 295;4-6.281-89.

Heap AJ, Cummings DE. A novel weight-reducing operation: lateral subtotal gastrectomy with silastic ring plus small bowel reduction with omentectomy. *Obes Surg*. 2008 Jul;18(7):819-28.

Herbst CA, Hughes TA, Gwynne JT, Buckwalter JA. Gastric bariatric operation in insulin-treated adults. *Surgery*. 1984 Feb;95(2):209-14.

Hojberg PV, Vilsboll T, Rabbol R, Knop FK, Bache M, Krarup T, Holst JJ, Madsbad S. Four weeks of near-normalisation of blood glucose improves the insulin response to glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2009;52(2):199-207.

Holst JJ, Orskov C. Incretin hormones--an update. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 2001;234:75-85.

Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev*. 2007; 87:1409-39.

Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med*. 2001;345:790-797.

Hu FB. Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes. *Diabetes Care*. 2011 Jun;34(6):1249-57.

IDF - International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas. Epidemiology and Mobility*. In: International Diabetes Federation. Available from <http://www.idf.org/>. Accessed on 1 March 2011

Imeryüz N, Yeğen BC, Bozkurt A, Coşkun T, Villanueva-Peñacarrillo ML, Ulusoy NB. Glucagon-like peptide-1 inhibits gastric emptying via vagal afferent-mediated central mechanisms. *Am J Physiol*. 1997 Oct;273(4 Pt 1):G920-7.

Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, Taskinen MR, Groop L. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001 Apr;24(4):683-9.

Jervis EL, Levin RJ. Anatomic adaptation of the alimentary tract of the rat to the hyperphagia of chronic alloxan-diabetes. *Nature*. 1966; 210:391-93.

Johnson LR. Regulation of gastrointestinal mucosal growth. *Physiol Rev*. 1988;68: 456-502.

Juhan-Vague I, Alessi MC, Morange PE. Hypofibrinolysis and increased PAI-1 are linked to atherothrombosis via insulin resistance and obesity. *Ann Med*. 2000 Dec;32 Suppl 1:78-84.

Kahn E. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2003; 46:3-19.

Kajimoto Y, Kaneto H. Role of oxidative stress in pancreatic beta cell dysfunction. *Ann.N.Y.Acad*. 2004;1011:168-176.

Kao YH, Lo CH, Huang CK. Relationship of bypassed limb length and remission of type 2 diabetes mellitus after Roux-en-Y gastric bypass. *Surg Obes Relat Dis*. 2011 Oct 30.

Karamanakos SN, Vagenas K, Kalfarentzos F, Alexandrides TK. Weight loss, appetite suppression, and changes in fasting and postprandial ghrelin and peptide-YY levels after Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy: a prospective, double blind study. *Ann Surg*. 2008;247:401-7.

Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T. Spontaneous long-term

hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. *Diabetes*. 1992 Nov;41(11):1422-8.

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

Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32:1431-1437.

Khosrow A, Lewis GF. Intestinal lipoprotein overproduction in insulin-resistant states. *Current Opinion in Lipidology*. 2008; 19:221–228.

Khosrow A. Postprandial dyslipidemia in insulin resistance: mechanisms and role of intestinal insulin sensitivity. *Atheroscler Suppl*. 2008 Sep;9(2):7-13.

Kidd M, Nadler B, Mane S, Eick G, Malfertheiner M, Champaneria M, Pfragner R, Modlin I. GeneChip, geNorm, and gastrointestinal tumors: novel reference genes for real-time PCR. *Physiol Genomics*. 2007 Aug 20;30(3):363-70. Epub 2007 Apr 24.

Kieffer T J. Harnessing the gut to treat diabetes. *Pediatric Diabetes*. 2004; 5:57-69.

Kim JW, Y KH. Glucolipotoxicity in pancreatic beta cells. *Diabetes Metab J*. 2011;35:444-50.

Knop FK. Resolution of type 2 diabetes following gastric bypass surgery: involvement of gut-derived glucagon and glucagonotropic signalling? *Diabetologia*. 2009 Nov;52(11):2270-6.

Koning L de, Merchant AT, Pogue J, Anand SS. Waist circumference and waist-to-hip ratio as predictors of cardiovascular events: meta-regression analysis of prospective studies. *Eur Heart J*. 2007 Apr;28(7):850-6. Epub 2007 Apr 2.

Koopmans HS, Sclafani A, Fichtner C. The effects of ileal transposition on food intake and body weightloss in VMH-obese rats. *Am J Clin Nutr*. 1982; 35:284-93.

Kopsombut G, Shoulson R, Milone L, Korner J, Lifante JC, Sebastian M, Inabnet WB. Partial Small Bowel Resection with Sleeve Gastrectomy Increases Adiponectin Levels and Improves Glucose Homeostasis in Obese Rodents with Type 2 Diabetes. *World J Surg*. 2012 Feb 24.

LaFerrere B, Teixeira J, McGinty J, Tran H, Egger JR, Colarusso A et al. Effect of weight loss by gastric bypass surgery versus hypocaloric diet on glucose and incretin levels in patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2008;93:2479-2485.

Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature*. 1992 Jul 2;358(6381):15-6.

Lanni C, Racchi M, Memo M, Govoni S, Uberti D. p53 at the crossroads between cancer and neurodegeneration. *Free Radic Biol Med*. 2012 Mar 3;52(9):1727-1733.

Lauronen J, Pakarinen MP, Haltunen J, Kuusanmaki P, Haglund C, Paavonen T. Mucosal expression of p21,p27,p53,Bcl-2, and bax after small bowel resection and autotransplantation in pigs. *Pediatr Surg Int*. 2005; 21:351-355.

Le Roux CW, Aylwin SJ, Batterham RL. Gut hormone profiles following bariatric surgery favor

- anorectic state, facilitate weight loss, and improve metabolic parameters. *Ann Surg.* 2006;243:108-14.
- Lebovits HE. Effects of the postprandial state on nontraditional risk factors. *Am J Cardiol.* 2001;88(suppl):20H-25H.
- Levin RJ. Digestion and absorption of carbohydrates—from molecules and membranes to humans. *Am J Clin Nutr.* 1994;59(suppl):690S-8S.
- Li L, Li J, Rao J N, Li M, Bass BL, Wang J. Inhibition of polyamine synthesis induces p53 gene expression but not apoptosis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 1999; 276:C946-C954.
- Li L, Rao JN, Guo X, Liu L, Santora R, Bass BL, Wang JY. Polyamine depletion stabilizes p53 resulting in inhibition of normal intestinal epithelial cell proliferation. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001 Sep;281(3):C941-53.
- Lim S, Won H, Kim Y, Jang M, Jyothi K R, Kim Y, Dandona P, Ha J, Kim S S. Antioxidant enzymes induced by repeated intake of excess energy in the form of high-fat, high-carbohydrate meals are not sufficient to block oxidative stress in healthy lean individuals *British Journal of Nutrition.* 2011; 106: 1544-1551.
- Lim S, Won H, Kim Y, Jang M, Jyothi KR, Kim Y, Dandona P, Ha J, Kim SS. Antioxidant enzymes induced by repeated intake of excess energy in the form of high-fat, high-carbohydrate meals are not sufficient to block oxidative stress in healthy lean individuals. *Br J Nutr.* 2011 Nov;106(10):1544-51. Epub 2011 Jun 8.
- Litvak DA, Hellmich MR, Evers BM, Banker NA, Townsend Jr CM. Glucagon-like peptide 2 is a potent growth factor for small intestine and colon. *J Gastrointest Surg.* 1998; 2:146-50.
- Liu L, Santora R, Rao JN, Guo X, Zou T, Zhang HM, Turner DJ, Wang JY. Activation of TGF-beta-Smad signaling pathway following polyamine depletion in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003 Nov;285(5):G1056-67.
- Liu L, Yu Yun-Li, LC, Wang XT, Liu XD, Xie L. Insulin deficiency induces abnormal increase in intestinal disaccharidase activities and expression under diabetic states, evidences from in vivo and in vitro study. *Bioch Pharmacol.* 2011;82:1963-1970.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* 2001 Dec;25(4):402-8.
- Löser C, Eisel A, Harms D, Fölsch UR. Dietary polyamines are essential luminal growth factors for small intestinal and colonic mucosal growth and development. *Gut.* 1999;44:12-16.
- Lottati M, Kolka CM, Stefanovski D, Kirkman EL, Bergman RN. Greater omentectomy improves insulin sensitivity in non obese dogs. *Obesity.* 2009 Apr;17(4):674-80.
- Love AL, Billett HH. Obesity, bariatric surgery, and iron deficiency: true, true, true and related. *Am J Hematol.* 2008 May;83(5):403-9.
- Lowe WL Jr, Adamo M, Werner H, Roberts CT Jr, LeRoith D. Lowe WL Jr. Regulation by fasting of rat insulin-like growth factor I and its receptor. Effects on gene expression and binding. *J Clin Invest.* 1989 Aug;84(2):619-26.

Ludwig DS. The glycemic index: physiological mechanisms relating to obesity, diabetes, and cardiovascular disease. *JAMA*. 2002 May 8;287(18):2414-23.

Lynn FC, Pamir N, Ng EH, McIntosh CH, Kieffer TJ, Pederson RA. Defective glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor expression in diabetic fatty Zucker rats. *Diabetes*. 2001;50:1004-11.

Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, Del Guerra S, Orho-Melander M, Almgren P, Sjögren M, Ling C, Eriksson KF, Lethagen AL, Mancarella R, Berglund G, Tuomi T, Nilsson P, Del Prato S, Groop L. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2007 Aug;117(8):2155-63.

Lyssenko V, McCarthy MI, Groop L, Salehi A, Gloyn AL, Renström E, Rorsman P, Eliasson L. Diabetes. Reduced Insulin Exocytosis in Human Pancreatic β -cells With Gene Variants Linked to Type 2 Diabetes. 2012 Apr 9. [Epub ahead of print].

Ma W, Sung HJ, Park JY, Matoba S, Hwang PM. A pivotal role for p53: balancing aerobic respiration and glycolysis. *Bioenerg Biomembr*. 2007 Jun;39(3):243-6.

Maddocks O D K., Vousden K H.. Metabolic regulation by p53. *J Mol Med*. 2011;89:237-245.

Marandi S, De Keyser N, Saliez A, Maernoudt AS, Sokal EM, Stilmant C, Rider MH, Buts JP. Insulin signal transduction in rat small intestine: role of MAP kinases in expression of mucosal hydrolases. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001 Feb;280(2):G229-40.

Marchetti P, Del Guerra S, Marselli L, Lupi R, Masini M, Pollera M, Bugliani M, Boggi U, Vistoli F, Mosca F, Del Prato S. Pancreatic islets from type 2 patients have functional defects and increased apoptosis that are ameliorated by metformin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5535-41.

Mason EE. Ileal transposition and enteroglucagon/GLP-1 in obesity (and Diabetic) Surgery. *Obesity Surgery*. 1999;9:223-28.

Mathers JC. Nutrient regulation of intestinal proliferation and apoptosis. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1998;57:219-23.

Matveyenko AV, Butler PC. Relationship between β -cell mass and diabetes onset. *Diabetes. Obesity and Metabolism*. 2008;10(Suppl. 4): 23-31.

McDuffie LA, Bucher BT, Erwin CR, Wakeman D, White FV, Warner BW. Intestinal adaptation after small bowel resection in human infants. *Journal of Pediatric Surgery*. 2011; 46:1045-1051.

McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet*. 2002 Jan 5;359(9300):46-7.

Meier JJ, Kemmeries G, Holst JJ, Nauck MA. Erythromycin antagonizes the deceleration of gastric emptying by glucagon-like peptide 1 and unmasks its insulinotropic effect in healthy subjects. *Diabetes*. 2005 Jul;54(7):2212-8.

Milléo FQ, Campos ACL, Santoro S. Metabolic effects of an entero-omentectomy in mildly obese type 2 diabetes mellitus patients after three years. *Clinics*. 2011;66(7):1227-33.

Milléo FQ, Mallafaia O, Nassif PA. Estudo comparativo das técnicas cirúrgicas de Capella e Santoro tipo II para tratamento da obesidade, sobre o IMC e trigliceridemia periférica. *Rev Bras Videocir.* 2006;4(4):151-61.

Miller DL, Hanson W, Schedl HP, Osborne JW. Proliferation rate and transit time of mucosal cells in small intestine of the diabetic rat. *Gastroenterology.* 1977;73:1326-1332.

Minamino T, Orimo M, Shimizu I, Kunieda T, Yokoyama M, Ito T, Nojima A, Nabetani A, Oike Y, Matsubara H, Ishikawa F, Komuro I. A crucial role for adipose tissue p53 in the regulation of insulin resistance. *Nat Med.* 2009 Sep;15(9):1082-7.

Minois N, Carmona-Gutierrez D, Madeo F. Polyamines in aging and disease. *Aging (Albany NY).* 2011 Aug;3(8):716-32. Review

Miyawaki K, Yamada Y, Ban N, Ihara Y, Tsukiyama K, Zhou H, Fujimoto S, Oku A, Tsuda K, Toyokuni S, Hiai H, Mizunoya W, Fushiki T, Holst JJ, Makino M, Tashita A, Kobara Y, Tsubamoto Y, Jinnouchi T, Jomori T, Seino Y. Inhibition of gastric inhibitory polypeptide signaling prevents obesity. *Nat Med.* 2002 Jul;8(7):738-42. Epub 2002 Jun 17.

Monte SV, Caruana JA, Ghanim H, Sia CL, Korzeniewski K, Schentag JJ, Dandona P. Reduction in endotoxemia, oxidative and inflammatory stress, and insulin resistance after Roux-en-Y gastric bypass surgery in patients with morbid obesity and type 2 diabetes mellitus. *Surgery.* 2012 Apr;151(4):587-93.

Mortensen K, Christensen LL, Holst JJ, Orskov C. GLP-1 and GIP are colocalized in a subset of endocrine cells in the small intestine. *Regul Pept.* 2003 Jul 15;114(2-3):189-96.

Morton GJ, Cummings DE, Barkin DJ et al. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2006; 443(21): 289-95.

Munter JS, Hu FB, Spiegelman D, Franz M, van Dam RM. Whole grain, bran, and germ intake and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study and systematic review. *PLoS Med.* 2007;4:e261.

Nauck MA, Bartels E, Orskov C, Ebert R, Creutzfeldt W: Additive insulinotropic effects of exogenous synthetic human gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1-(7-36) amide infused at near-physiological insulinotropic hormone and glucose concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;76:912-917.

Noda T, Iwakiri R, Fujimoto K, Yoshida T, Utsumi H. Suppression of Apoptosis Is Responsible for Increased Thickness of Intestinal Mucosa in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Metabolism.*, 2001 March;50(3):259-264.

Olovnikov IA., Kravchenko J E, Chumakov P M. Homeostatic functions of the p53 tumor suppressor: Regulation of energy metabolism and antioxidant defense. *Seminars in Cancer Biology.* 2009; 19: 32-41.

Osborne D L, Payne S C, Russ RD, Tobin B. Comparison of Therapeutic Regimens in the Amelioration of alterations in rat gastrointestinal mucosal dna, rna and protein induced by streptozotocin diabetes mellitus. *Life Sciences.* 2000;66(24):2405-2417.

Papadakis J. Sleeve gastrectomy - A "Food Limiting" operation. *Obes Surg.* 2008; 18:1251-1256.

Parekh VV, Hoffman JL, Younoszai MK. Effects of diabetes and difluoromethylornithine treatment on hyperplasia, activity of MAP-kinase, and activity and association with cyclin B of p34cdc2 kinase in rat jejunal mucosa. *J Investig Med*. 1998 Feb;46(2):76-81.

Parker HE, Reimann F, Gribble F. Molecular mechanisms underlying nutrient-stimulated incretin secretion. *Expert Rev Mol Med*. 2010 Jan 5;12:e1.

Pipkin JL, Hinson WG, James SJ, Lyn-Cook LE, Duffy PH, Feuers RJ, Shaddock JG, Aly KB, Hart RW, Casciano DA. P53 synthesis and phosphorylation in the aging diet-restricted rat following retinoic acid administration. *Mech Ageing Dev*. 1997 Jul;97(1):15-34.

Piteau S, Olver A, Kim S, Winter K, Pospisilik JA, Lynn F, Manhart S, Demuth H, Speck M, Pederson R, McIntosh C. Reversal of islet GIP receptor down-regulation and resistance to GIP by reducing hyperglycemia in the Zucker rat. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 Nov 3;362(4):1007-12.

Poitout V, Robertson R P. Minireview: Secondary beta cell failure in type 2 diabetes. A convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 2002;143:2339-42.

Pories WJ, Albrecht RJ. Etiology of type II diabetes mellitus: role of the foregut. *World J Surg*. 2001 Apr;25(4):527-31.

Pories WJ, Swanson MS, MacDonald KG, Long SB, Morris PG, Brown BM, Barakat HA, deRamon RA, Israel G, Dolezal JM, et al. Who would have thought it? An operation proves to be the most effective therapy for adult-onset diabetes mellitus. *Ann Surg*. 1995 Sep;222(3):339-50.

Qi Z, He J, Yuan Z, Shao Y, Ding S. Exercise training attenuates oxidative stress and decreases p53 protein content in skeletal muscle of type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Free Radical Biology & Medicine*. 2011;50:794-800.

Ramón JM, Salvans S, Crous X, Puig S, Goday A, Benaiges D, Trillo L, Pera M, Grande L. Effect of Roux-en-Y Gastric Bypass vs Sleeve Gastrectomy on Glucose and Gut Hormones: a Prospective Randomised Trial. *J Gastrointest Surg*. 2012 Mar 9. [Epub ahead of print].

Rao JN, Wang JY. *Regulation of Gastrointestinal Mucosal Growth*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences, 2010.

Rao RS, Kini S. GIP and bariatric surgery. *Obes Surg*. 2011 Feb;21(2):244-52.

Rao RS, Kini S. GIP and Bariatric Surgery. *Obes Surg*. 2011;21:244-252.

Reaven GM. Banting Lecture 1988: role of insulin of insulin resistance in human disease. *Diabetes*. 1988;37:1595-1607.

Rehfeld JF. A centenary of gastrointestinal endocrinology. *Horm Metab Res*. 2004 Nov-Dec;36(11-12):735-41.

Reinehr T, Roth CL, Schernthaner GH, Kopp HP, Kriwanek S, Schernthaner G. Peptide YY and glucagon-like peptide-1 in morbidly obese patients before and after surgically induced weight loss. *Obes Surg*. 2007 Dec;17(12):1571-7.

Richdeep S. Gill, M.D, Daniel W. Birch, M.D., Xinzhe Shi, M.P.H, Arya M. Sharma, M.D, Shahzeer Karmali, M.D. Sleeve gastrectomy and type 2 diabetes mellitus: a systematic review. *Surgery for Obesity and Related Diseases*. 2010;6:707-713.

Roberson RP, Harmon J, Tran PO, Takahashi H. Glucose toxicity in beta cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. 2003;52:581-87.

Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*. 2009;84:705-12.

Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. 2003 Mar;52(3):581-7.

Romero F, Nicolau J, Flores L, Casamitjana R, Ibarzabal A, Lacy A, Vidal J. Comparable early changes in gastrointestinal hormones after sleeve gastrectomy and Roux-En-Y gastric bypass surgery for morbidly obese type 2 diabetic subjects. *Surg Endosc*. 2012 Feb 1. [Epub ahead of print].

Rosengren AH, Braun M, Mahdi T, Andersson SA, Travers ME, Shigeto M, Zhang E, Almgren P, Ladenvall C, Axelsson AS, Edlund A, Pedersen MG, Jonsson A, Ramracheya R, Tang Y, Walker JN, Barrett A, Johnson PR, Lyssenko V, McCarthy MI, Groop L, Salehi A, Gloyn AL, Renström E, Rorsman P, Eliasson L. Reduced Insulin Exocytosis in Human Pancreatic β -cells With Gene Variants Linked to Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2012 Apr 9. [Epub ahead of print]

Rubino F, Forgione A, Cummings DE. The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Annals of Surgery*. 2006; 244(5):741-49.

Rubino F, Gagner M, Gentileschi P. The early effect of the Roux-en-Y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation and glucose metabolism. *Ann Surg*. 2004;240:236-42.

Saad M F, Knowler WC, Pettitt

D J, Nelson R G, Mott M, Bennett PH. The Natural History of Impaired Glucose Tolerance in the Pima Indians. *N Engl J Med*. 1988;319;8:1500-1506.

Santoro S. *et al.* Adaptação digestiva: Uma nova proposta cirúrgica para tratar obesidade com base em fisiologia e evolução. Einstein, São Paulo, v.1, p.99-104, 2003.

Santoro S, Castro LC, Velhote MCP, et al. Sleeve Gastrectomy with Transit Bipartition. A Potent Intervention for Metabolic Syndrome and Obesity. *Ann Surg*, in press

Santoro S, Malzoni CE, Velhote MC, Milleo FQ, Santo MA, Klajner S, Damiani D, Maksoud JG. Digestive Adaptation with Intestinal Reserve: a neuroendocrine-based operation for morbid obesity. *Obes Surg*. 2006 Oct;16(10):1371-9.

Santoro S, Milleo FQ, Malzoni CE. Enterohormonal changes after Digestive Adaptation: Five-year results of a surgical proposal to treat obesity and associated diseases. *Obes Surg*. 2008;18(1):17-26.

Santoro S, Velhote MC, Malzoni CE, Milleo FQ, Klajner S, Campos FG. Preliminary results from digestive adaptation: a new surgical proposal for treating obesity, based on physiology and evolution. *Sao Paulo Med J*. 2006 Jul 6;124(4):192-7.

Santoro S. Adaptive and neuroendocrine procedures: A new pathway in bariatric and metabolic surgery. *Obes Surg.* 2008;18(10):1343-45.

Santoro S. Is the Metabolic syndrome a disease of the foregut? Yes, excessive foregut. *Ann Surg.* 2008;247:1074-1075.

Schauer PR, Kashyap SR, Wolski K, Brethauer SA, Kirwan JP, Pothier CE, Thomas S, Abood B, Nissen SE, Bhatt DL. Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy in Obese Patients with Diabetes. *N Engl J Med.* 2012 Mar 26.

Schedl H, Wilson H. Effects of diabetes on intestinal growth in rat. *Journal of experimental zoology.* 1971;176:487-496.

Schedl HP, Schwartz J, Wilson HD Increased Intestinal Growth in the Streptozotocin-Diabetic Rat Occurs prior to Changes in Hormone Secretion. *Digestion.* 1988;39:137-143.

Schirra Jorg, Katschinski M, Weidmann C, Schafer T, Wank U, Arnold R, Goke B. Gastric emptying and release of incretin hormones after glucose ingestion in humans. *J Clin Invest.* 1996; 97(1):92-103.

Schwartzberg-Bar-Yoseph F, Armoni M, Karnieli E. The tumor suppressor p53 down-regulates glucose transporters GLUT1 e GLUT4 gene expression. *Cancer Res.* 2004;1;64(7):2627-33.

Scolapio JS. Treatment of short-bowel syndrome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2001 Nov;4(6):557-60.

Scott WR, Batterham RL. Roux-en-Y gastric bypass and laparoscopic sleeve gastrectomy: understanding weight loss and improvements in type 2 diabetes after bariatric surgery. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011 Jul;301(1):R15-27.

Seiler N, Sarhan S, Jones R, Knödgen B, Moulinoux J. Endogenous and exogenous polyamines in support of tumor growth. *Cancer Res.* 1990;50:5077-83.

Shaner G, Finney RE. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology.* 1977; 67:1051–1056.

Shin C E, Falcone JR R A, Kemp C J,Erwin C R,Litvak DA, Evers B M,Warner B W. Intestinal adaptation and enterocyte apoptosis following small bowel resection is p53 independent. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 1999;277:G717-G724.

Shu L, Matveyenko AV, Kerr-Conte J, Cho JH, McIntosh CH, Maedler K. Decreased TCF7L2 protein levels in type 2 diabetes mellitus correlate with downregulation of GIP- and GLP-1 receptors and impaired beta-cell function. *Hum Mol Genet.* 2009 Jul 1;18(13):2388-99.

Sjöström L, Peltonen M, Jacobson P, Sjöström CD, Karason K, Wedel H, Ahlin S, Anveden Å, Bengtsson C, Bergmark G, Bouchard C, Carlsson B, Dahlgren S, Karlsson J, Lindroos AK, Lönroth H, Narbro K, Näslund I, Olbers T, Svensson PA, Carlsson LM. Bariatric surgery and long-term cardiovascular events. *JAMA.* 2012 Jan 4;307(1):56-65.

Sjöström, L., A.K. Lindroos, M. Peltonen, et al. Lifestyle, diabetes, and cardiovascular risk factors 10 years after bariatric surgery. *N. Engl. J. Med.* 2004;351: 2683-93.

Speck M, Cho YM, Asadi A, Rubino F, Kieffer TJ. Duodenal-jejunal bypass protects GK rats from beta-cell loss and aggravation of hyperglycemia and increases enteroendocrine cells coexpressing GIP and GLP-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011 May;300(5):E923-32.

Sposito, Andrei C. et al. IV Diretriz Brasileira sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol*. 2007;88(suppl.1):2-19.

Sukhotnik I, Shamir R, Bashenko Y, Mogilner JG, Chemodanov E, Shaoul R, Coran AG, Shehadeh N. Effect of oral insulin on diabetes-induced intestinal mucosal growth in rats. *Dig Dis Sci*. 2011;56:2566-74.

The diabetes pandemic. *Lancet*. 2011 Jul 9;378(9786):99.

Theodorakis MJ, Carlson O, Michopoulos S, Doyle ME, Juhaszova M, Petraki K, Egan JM Human duodenal enteroendocrine cells: source of both incretin peptides, GLP-1 and GIP. *Am J Endocrinol Metab*. 2006;290:E550-E559.

Theodorakis MJ. Elevated plasma glucose-dependent insulinotropic polypeptide associates with hyperinsulinemia in impaired glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2004;27(7):1692-98.

Third Report of the NCEP - National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002 Dec 17;106(25):3143-421.

Thomas RP, Hellmich MR, Townsend CM, Evers BM. Role of gastrointestinal hormones in the proliferation of normal and neoplastic tissues. *Endocrine Rev*. 2003;24: 571-99.

Tsukahara H. Biomarkers of oxidative stress: clinical application in pediatric medicine. *Current Medicinal Chemistry*. 2007;14:339-51.

Turner RC, Millns H, Neil HA, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, Holman RR. Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS: 23). *BMJ*. 1998 Mar 14;316(7134):823-8.

Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, Edwards CM, Meeran K, Choi SJ, Taylor GM, Heath MM, Lambert PD, Wilding JP, Smith DM, Ghatei MA, Herbert J, Bloom SR. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*. 1996 Jan 4;379(6560):69-7.

Vaillant CR, Lund PK. Distribution of glucagon-like peptide I in canine and feline pancreas and gastrointestinal tract. *J Histochem Cytochem*. 1986; 34:1117-21.

Valentin-Vega YA, Okano H, Lozano G. The intestinal epithelium compensates for p53-mediated cell death and guarantees organismal survival. *Cell Death Differ*. 2008 November;15(11):1772-81.

Verdam FJ, Greve JW, Roosta S, van Eijk H et al. Small Intestinal Alterations in Severely Obese Hyperglycemic Subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 February;96(2):E379-E383.

Villegas R, Liu Si, Gao Y, MD; Gong Y. Prospective Study of Dietary Carbohydrates, Glycemic Index, Glycemic Load, and Incidence of Type 2 Diabetes Mellitus in Middle-aged Chinese Women. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2000 June;71(6):1455-61.

Vilsbøll T, Krarup T, Deacon CF, Madsbad S, Holst JJ. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2001;50:609-613.

Vilsbøll T, Krarup T, Madsbad S, Holst JJ. Both GLP-1 and GIP are insulinotropic at basal and postprandial glucose levels and contribute nearly equally to the incretin effect of a meal in healthy subjects. *Regul Pept*. 2003 Jul 15;114(2-3):115-21.

Vilsbøll T, Krarup T, Madsbad S, Holst JJ. Defective amplification of the late phase insulin response to glucose by GIP in obese Type II diabetic patients. *Diabetologia*. 2002 Aug;45(8):1111-9.

Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. Surfing the p53 network. *Nature*. 2000 Nov 16;408(6810):307-10.

Vousden KH, Ryan KM. p53 and metabolism. *Nature reviews*. 2009;9:691-700.

Wachters-Hagedoorn RE, Priebe MG, Heimweg JA, Heiner AM, Englyst KN, Holst JJ, Stellaard F, Vonk RJ. The rate of intestinal glucose absorption is correlated with plasma glucose-dependent insulinotropic polypeptide concentrations in healthy men. *J Nutr*. 2006 Jun;136(6):1511-6.

Wakeman D, Longshore SW, McMellen ME, Santos JA, Guo J, Erwin CR, Warner BW. Extent of small bowel resection does not influence the magnitude of intestinal adaptation in the mouse. *Journal of Pediatric Surgery*. 2010;45:1274-1279.

Wang JY. Polyamines and mRNA stability in regulation of intestinal mucosal growth. *Amino Acids*. 2007 Aug;33(2):241-52.

Wang SY, Halban PA, Rowe JW. Effects of aging on insulin synthesis and secretion. Differential effects on proinsulin messenger RNA levels, proinsulin biosynthesis, and secretion of newly made and performed insulin in the rat. *J Clin Invest*. 1988;81:176-184.

Wang Y, Rimm EB, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Comparison of abdominal adiposity and overall obesity in predicting risk of type 2 diabetes among men. *Am J Clin Nutr*. 2005;81:555-563.

Webster NJ, Resnik JL, Reichart DB, Strauss B, Haas M, Seely BL. Repression of the insulin receptor promoter by the tumor suppressor gene product p53. a possible mechanism for receptor overexpression in breast cancer. *Cancer Res*. 1996;56(15):2781-88.

Webster NJG, Resnik JL, Reichart DB, Strauss B, Haas M, Seely L. Repression of the insulin receptor promoter by the tumor suppressor gene product p53. a possible mechanism for receptor overexpression in breast cancer. *Cancer Res* 1996;56(15):2781-88.

Weinberg JM. Lipotoxicity. *Kidney Int*. 2006 Nov;70(9):1560-6.

Weiner RA, Weiner S, Pomhoff I, Jacobi C, Makarewicz W, Weigand G. Laparoscopic sleeve gastrectomy--influence of sleeve size and resected gastric volume. *Obes Surg*. 2007 Oct;17(10):1297-305.

Werner H, Karnieli E, Rauscher FJI, Leroith D. Wild-type and mutant p53 differentially regulate transcription of the insulin-like growth factor I receptor gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996;93:8318-23.

Weser E, Babbitt J, Vandeventer A. Relationship between enteral glucose load and adaptative mucosal growth in the small bowel. *Dig Dis Sci.* 1985;30(7):675-681.

WHO 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva, Switzerland, 2000.

WHO 2006. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. Geneva, Switzerland, 2006.

Williams S, Cunningham E, Pories WJ. Surgical Treatment of Metabolic Syndrome. *Med Princ Pract.* 2012 Jan 4. [Epub ahead of print]

Wissam A, Rubinger DA, Wheaton K. ROS-Mediated p53 Induction of Lpin1 Regulates Fatty Acid Oxidation in Response to Nutritional Stress. *Molecular Cell.* 2011 November 4;44:491-501.

Ye C, Li X, Wang Y, Zhang Y, Cai M, Zhu B, Mu P, Xia X, Zhao Y, Weng J, Gao X, Wen X. Diabetes causes multiple genetic alterations and downregulates expression of DNA repair genes in the prostate. *Lab Invest.* 2011 Sep;91(9):1363-74.

Young AA, Gedulin BR, Rink TJ. Dose-responses for the slowing of gastric emptying in a rodent model by glucagon-like peptide (7-36) NH₂, amylin, cholecystokinin, and other possible regulators of nutrient uptake. *Metabolism.* 1996 Jan;45(1):1-3.

Zhang AH, Rao J N, Zou T, Liu L, Marasa B S et al. p53-Dependent NDRG1 expression induces inhibition of intestinal epithelial cell proliferation but not apoptosis after polyamine depletion. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;293:C379-C389.

Zhang P, Zhang X, Brown J, et al. Global healthcare expenditure on diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010;87:293-301.

Zitoun R, Mithieux C, Bady G I. Induction of control genes in intestinal gluconeogenesis is sequential during fasting and maximal in diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004;286:E370-E375.

APÊNDICE A - Dieta padronizada

	Carboidrato (g)	Proteína (g)	Lípido (g)	Fibra alimentar (g)	Calorias (kcal)
Barra de cereal	30	2	7,2	3,4	180
Biskui	35	6	1,8	0	174,5
Bolacha	9,7	1	3,3	0,4	67,5
Bebida à base de soja maracujá	22	1,2	0,5	0,6	97
Total					519

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

Barra de cereal Castanha do Pará Nutry (2 unidade)

Biskui Bauducco (4 unidades)

Bolacha Bauducco Banana e Canela (3 unidades)

Bebida à base de soja Ades, sabor Maracujá (200 ml)

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE B - Tabela com a evolução individual do IMC nos 3,6 e 12 meses de pós-operatório

IMC				
Paciente	Pré	3m	6m	12m
1.	26,47	22,40	22,53	22,53
2.	33,27	27,83	22,38	22,80
3.	32,15	26,13	24,17	24,31
4.	29,69	24,87	24,45	25,03
5.	30,56	28,20	28,20	28,43
6.	32,18	24,98	23,88	23,53
7.	32,77	28,27	23,85	23,93
8.	33,39	28,50	25,10	24,70
9.	31,21	26,39	24,54	22,26
Média	31,30	26,40	24,34	24,17
Desvio Padrão	2,19	2,05	1,70	1,87

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE C - Perda em porcentagem do IMC nos 3,6 e 12 meses de pós-operatório

% de perda do IMC			
Paciente	pré/3 m	pré/6m	pré/12m
1.	15,4	14,9	14,9
2.	16,4	32,7	31,5
3.	18,7	24,8	24,4
4.	16,2	17,6	15,7
5.	7,7	7,7	7,0
6.	22,4	25,8	26,9
7.	13,7	27,2	27,0
8.	14,6	24,8	26,0
9.	15,4	21,4	28,7
Média	15,7	22,2	22,8
Desvio Padrão	6,4	22,4	14,8

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE D - Tabela com evolução individual do peptídeo C

Peptídeo				
Paciente	Pré	3m	6m	12m
1.	0,90	1,00		1, 20
2.	2,00	3,10	2,60	1,80
3.	1,20	1,70	2,80	2,50
4.	1,80	3,10	3,40	2,80
5.	1,50	2,40	2,30	2,90
6.	0,90	1,10	1,00	1,50
7.	1,40	2,10	2,60	2,00
8.	2,10	3,20	3,00	3,60
9.	1,8		2,8	
Média	1,51	2, 21	2,56	2, 29
Desvio Padrão	0,45	0,89	0,71	0,80

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE E – Tabela individualizada das Glicemias em Jejum

Glicemia Jejum				
Paciente	Pré	3m	6m	12m
1.	385,00	128,00	94,00	96,00
2.	235,00	103,00	114,00	100,00
3.	220,00	97,00	90,00	94,00
4.	273,00	124,00	89,00	86,00
5.	310,00	120,00	113,00	99,00
6.	210,00	125,00	107,00	98,00
7.	298,00	110,00	104,00	101,00
8.	247,00	92,00	95,00	88,00
9.	248,00	113,70	101,00	87,00
Média	269,56	112,52	100,78	94,33
Desvio Padrão	54,72	12,96	9,40	5,89

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE F - Tabela individualizadas da Glicemias pós-prandiais

GLIC PÓS-PRANDIAL				
Paciente	Pré	3m	6m	12m
1.	410,00	172,00	145,00	153,00
2.	234,00	161,00	154,00	160,00
3.	379,00	153,00	138,00	148,00
4.	342,00	143,00	155,00	150,00
5.	396,00	108,00	137,00	125,00
6.	274,00	165,00	159,00	155,00
7.	305,00	171,00	160,00	143,00
8.	321,00	133,00	128,00	145,00
9.	353,00	150,00	148,00	152,00
Média	334,89	150,75	147, 11	147,89

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE G – Tabela Individualizada dos níveis de hemoglobina glicada

HbA1c				
Paciente	Pré	3m	6m	12m
1.	11,10	7,20	5,10	6,40
2.	8,30	6,80	7,10	6,70
3.	13,40	7,00	5,40	5,80
4.	10,50	6,50	5,40	5,10
5.	12,80	7,10	6,20	6,50
6.	11,70	6,80	6,40	6,70
7.	10,30	6,70	6,30	6,10
8.	9,40	6,20	5,10	4,80
9.	8,5	6,80	5,2	4,80
Média	10,67	6,79	5,80	5,88

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE H – Tabela individualizada com os níveis séricos de Triglicerídeos em jejum

Triglicerídeos				
Paciente	Pré	3m	6m	12m
1.	200,00	112,00	57,00	74,00
2.	186,00	134,00	97,00	117,00
3.	370,00	160,00	85,00	78,00
4.	259,00	110,00	85,00	73,00
5.	345,00	206,00	153,00	165,00
6.	284,00	144,00	140,00	112,00
7.	238,00	120,00	132,00	98,00
8.	780,00	164,00	134,00	148,00
9.	264,00	148,00	110,00	87,00
Média	325, 11	144, 25	110,33	105,78

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE I – Valores Individuais séricos de GLP-1

Pré-operatório

	Jejum	30 min	60 min	90 min	120 min
1	0,114	0,09	0,089	0,109	0,096
2	0,128	0,14	0,115	0,13	0,12
3	0,128	0,117	0,147	0,109	0,09
4	0,104	0,08	0,098	0,11	0,086
5	0,106	0,135	0,13	0,162	0,143
6	0,125	0,113	0,105	0,095	0,115
7	0,127	0,121	0,103	0,099	0,122
8	0,086	0,077	0,114	0,105	0,125

Pós-operatório

	Jejum	30 min	60 min	90 min	120 min
1	0,185	0,178	0,205	0,18	0,21
2	0,105	0,108	0,122	0,12	0,099
3	0,112	0,149	0,16	0,17	0,201
4	0,158	0,256	0,123	0,184	0,116
5	0,154	0,129	0,16	0,154	0,164
6	0,183	0,11	0,156	0,222	0,155
7	0,116	0,122	0,135	0,121	0,122
8	0,139	0,132	0,126	0,179	0,293

APÊNDICE J – Valores Individuais séricos de GIP**Pré-operatório**

	Jejum	30 min	60 min	90 min	120 min
1	0,116	0,088	0,095	0,141	0,226
2	0,045	0,068	0,068	0,069	0,067
3	0,102	0,09	0,083	0,093	0,084
4	0,109	0,164	0,111	0,156	0,081
5	0,198	0,079	0,113	0,087	0,112
6	0,076	0,068	0,077	0,117	0,452
7	0,059	0,055	0,056	0,061	0,074
8	0,077	0,074	0,076	0,068	0,177

Pós-operatório

	Jejum	30 min	60 min	90 min	120 min
1	0,074	0,067	0,078	0,066	0,137
2	0,076	0,078	0,076	0,069	0,071
3	0,095	0,087	0,094	0,084	0,086
4	0,094	0,078	0,067	0,075	0,113
5	0,08	0,072	0,055	0,064	0,061
6	0,06	0,053	0,059	0,056	0,063
7	0,095	0,077	0,07	0,072	0,09
8	0,124	0,13	0,121	0,108	0,073

APÊNDICE L – Valores de $2^{-\Delta\Delta_{ct}}$ da amostra duodenal

Duodeno.Valores de $2^{-\Delta\Delta_{ct}}$	
pré-operatório	pós-operatório
0,34	1,85
1,34	0,52
0,68	3,92
0,73	2,77
0,27	0,58
1,68	2,62
	0,47
1,17	2,83
1,78	2,93

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE M – Valores de $2^{-\Delta\Delta_{ct}}$ da amostra ileal

Ileo. Valores de $2^{-\Delta\Delta_{ct}}$	
pré-operatório	pós-operatório
	2,58
0,46	0,65
0,44	1,42
1,32	0,41
0,60	1,01
0,65	2,53
1,69	2,00
1,80	2,58

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

APÊNDICE N – Tabela individualizada da evolução do Hematócrito

Hematócrito				
Paciente	Pré	3m	6m	12m
1.	44,00	40,00	43,00	42,00
2.	36,00	35,00	37,00	36,00
3.	40,00	38,00	37,00	37,00
4.	45,00	40,00	46,00	44,00
5.	35,00	38,00	37,00	40,00
6.	38,00	36,00	38,00	37,00
7.	40,00	38,00	37,00	39,00
8.	38,00	38,00	39,00	41,00
9.	38,00	34,00	36,00	37,00
Média	39,33	37,40	38,88	39,50
Desvio Padrão	3,55	2,51	3,41	2,78

Fonte: Dados da pesquisa, 2012.

ANEXO A - Ingenuity® Microarray - Células Intestinais

Summary of Analysis

Analysis Name: RobertoPG_RefeitoreuniaoFev0 - 2009-02-18 09:51 AM
 Analysis Date: 2009-02-18
 IPA version: 7.1

Analysis settings

[View](#)

Reference set: Human Whole Genome Bioarray
 Relationship to include: Direct and Indirect
 Includes Endogenous Chemicals
 Optional Analyses: My Pathways My List

Filter Summary:
 Consider all molecules and/or relationships

Top Networks

Associated Network Functions	Score
1 Gene Expression, Cell Death, Cell-mediated Immune Response	35
2 Embryonic Development, Tissue Development, Organismal Development	28
3 Cell Death, Cellular Development, Hematological System Development and Function	6
4 Digestive System Development and Function, Drug Metabolism, Small Molecule Biochemistry	3
5 Cellular Assembly and Organization, Hair and Skin Development and Function, Nervous System Development and Function	3

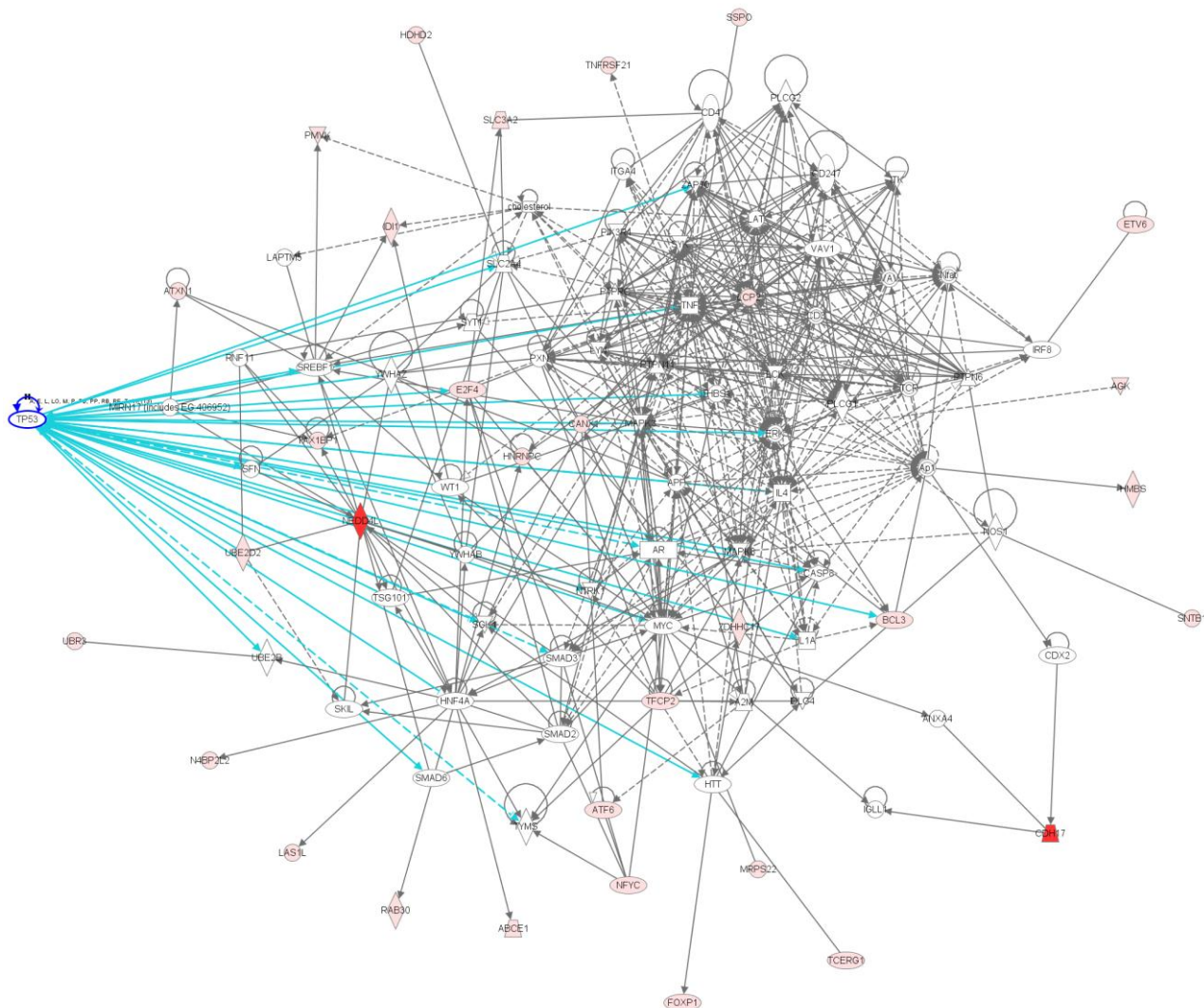
(c) 2000-2009 Ingenuity Systems, Inc. All rights reserved. 1

Fonte: Artoni et al., 2009.

Nota: Material proveniente do Grupo de Pesquisa em Diabetes/Cirurgia Metabólica da Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2009.

ANEXO B – Via metabólica do p53/epitélio intestinal - *Microarray*

RobertoPG_NetworksMerged_Fev09






© 2000-2009 Ingenuity Systems, Inc. All rights reserved.

Fonte: Artoni et al., 2009.

Nota: Material proveniente do Grupo de Pesquisa em Diabetes/Cirurgia Metabólica da Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2009.

ANEXO C – Parecer do Comitê de Ética

PARECER Nº 37/2010
Protocolo: 07883/10

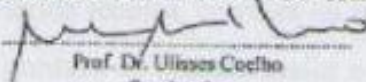
Em reunião ordinária, realizada dia 27 de Maio de 2010, a Comissão de Ética em Pesquisa, **APROVOU** o protocolo de pesquisa intitulado "Expressão de Genes Candidatos frente a Gastroenteromentectomia Adaptativa com Bipartição intestinal: Estratégia cirúrgica para o tratamento da Diabetes tipo 2 com sobrepeso ou obesidade grau 1" de responsabilidade do pesquisador Roberto Ferreira Artoni.

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

Data para entrega do relatório final: Agosto de 2011

Ponta Grossa, 28 de Maio de 2010.

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


 Prof. Dr. Ulisses Coelho
 Coordenador

Av. Café Cavalos, 1748 - CEP: 84200-900 - Ponta Grossa - PR - BRASIL
 Bloco M Sala 12 - Centro Universitário em Uvairemas
 Fone: (41) 3220-3188 - Fax: (41) 3220-3192
 e-mail: 3220coep@uepg.br - Home page: www.uepg.br

ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



Universidade Estadual de Ponta Grossa

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Av.: Gen. Carlos Cavalcanti, 4748 CEP: 84030-900

Campus Uvaranas Ponta Grossa Fone: 42.220.3262 e-mail: pesquisa@uegp.br

Consentimento Informado Especial:

Eu, _____, original da cidade de _____, Estado, _____, nascido (a) no dia/mês/ano _____, portador de documento de identidade número _____, CPF número _____, residente à rua _____, número, complemento _____, no Bairro _____, localizado no município de _____, Estado, _____, concordo com a minha participação no projeto de pesquisa intitulado “Expressão de genes candidatos frente a gastroentero-omentectomia adaptativa com bipartição intestinal: Estratégia cirúrgica para o tratamento do diabetes tipo 2 com sobrepeso e obesidade grau I” à realizar-se na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Laboratório M40 e nas dependências do Hospital Vicentino de Ponta Grossa, sob supervisão do Dr. Roberto Ferreira Artoni (42-32203739) e Dr Fábio Quirillo Milléo (42-3222-9444), respectivamente.

Declaro que estou sob tratamento médico para a diabetes tipo 2 e também para os elevados níveis de triglicérides e/ou colesterol no sangue, e que sei que são importantes fatores de risco para minha saúde.

Fui informado(a) sobre o recente desenvolvimento de nova técnica (Adaptação Digestiva) para o tratamento para a obesidade e que estas técnicas podem causar melhora acentuada do diabetes e da dislipidemia.

Fui informado(a) que a referida técnica, recém desenvolvida, consiste na retirada de parte do estômago, parte do intestino delgado e da gordura do omento maior e se destina a obesidade e suas complicações.

Fui igualmente informado(a) que, ainda mais recentemente, esta técnica foi reduzida, tendo havido a supressão da intervenção no estômago, para reduzir seu potencial emagrecedor e poder ser aplicada para diabéticos que não apresentam obesidade mórbida ou que não desejam restrições alimentares.

Estando cansado do tratamento medicamentoso e dietético, decidi submeter-me à referida técnica, suprimida da ressecção gástrica, com o intuito de melhorar meu perfil metabólico. Houve o esclarecimento de que se trata de técnica nova e com a qual não há experiência de longo prazo.

Estou ciente que a cirurgia que ora me proponho a fazer não é o procedimento habitual nem consagrado, mas uma técnica em fase inicial que visa melhorar o perfil metabólico dos pacientes (diabetes, dislipidemias e suas conseqüências).

Minha cirurgia consistirá da retirada de uma parte do intestino delgado (enterectomia parcial), deixando dimensões residuais ainda dentro dos limites da normalidade (3 metros), e da retirada da gordura do omento maior.

Fui informado(a) que a conformação geral do tubo digestivo sofrerá apenas uma redução proporcionada de dimensões. Todos os procedimentos (retirada da gordura do omento ou omentectomia e retirada de parte do intestino delgado ou enterectomia) são procedimentos bem conhecidos isoladamente.

Em busca de melhores resultados que os oferecidos por tratamentos consagrados, busco um procedimento sabidamente novo e assim compreendo que assumo riscos adicionais advindos da ausência de experiência consolidada. Nestes casos, o Hospital tem por responsabilidade apenas a boa execução dos procedimentos hospitalares, respeitando as orientações médicas, e não pela escolha da técnica ou método.

Estou ciente também que os dados gerados na pesquisa serão divulgados à comunidade científica em geral, respeitando o sigilo de meu nome.

Estou ciente ainda de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que haja penalização alguma ou prejuízo ao meu tratamento. Da mesma forma, não haverá qualquer dano e, que em caso de reclamação, ou busca de ajuda, poderei entrar em contato com a secretaria da Comissão de Ética em Pesquisa, pelo telefone (42)3220-3108, Av. Gal. Carlos Cavalcanti, n 4748, CEP 84030-900, Bloco M, Sala 12.

Fui igualmente esclarecido(a) que, esta como todas as cirurgias, tem riscos. Neste caso, os riscos incluem infecção, trombozes, embolias, deiscências e fístulas.

Fui esclarecido(a) do que significam os termos deste consentimento e tive todas minhas demais perguntas respondidas atenciosamente.

Ponta Grossa, ___ de _____ de 2010.

O(A) paciente, Sr(a) _____:

Clínico Responsável (Fábio Quirillo Milléo):

Responsável pela pesquisa (Roberto Ferreira Artoni):

Ponta Grossa, ___ de _____ de 20__.

ANEXO E – Critérios diagnósticos do Diabetes – ADA, 2012

Table 3—Criteria for the diagnosis of diabetes

A1C \geq 6.5%. The test should be performed in a laboratory using a method that is NGSP certified and standardized to the DCCT assay.*

OR

FPG \geq 126 mg/dl (7.0 mmol/l). Fasting is defined as no caloric intake for at least 8 h.*

OR

2-h plasma glucose \geq 200 mg/dl (11.1 mmol/l) during an OGTT. The test should be performed as described by the World Health Organization, using a glucose load containing the equivalent of 75 g anhydrous glucose dissolved in water.*

OR

In a patient with classic symptoms of hyperglycemia or hyperglycemic crisis, a random plasma glucose \geq 200 mg/dl (11.1 mmol/l).

*In the absence of unequivocal hyperglycemia, criteria 1–3 should be confirmed by repeat testing.

Fonte: ADA, 2012.

ANEXO F – Classificação dos níveis de triglicerídeos séricos

Table II.3–1. Classification of Serum Triglycerides

Triglyceride Category	ATP II Levels	ATP III Levels
Normal triglycerides	<200 mg/dL	<150 mg/dL
Borderline-high triglycerides	200–399 mg/dL	150–199 mg/dL
High triglycerides	400–1000 mg/dL	200–499 mg/dL
Very high triglycerides	>1000 mg/dL	≥500 mg/dL

Fonte: Third report of NCEP.Circulation 2002, 106; 3143.