

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas: Endocrinologia

Natália Luiza Kops

Consumo alimentar e perfil lipídico de pacientes candidatos à cirurgia bariátrica, portadores ou não do alelo Thr54 do gene *Fatty Acid Binding Protein-2*

Orientador: Prof. Dr. Rogério Friedman

Porto Alegre, 2016.

Natália Luiza Kops

Consumo alimentar e perfil lipídico de pacientes candidatos à cirurgia bariátrica, portadores ou não do alelo Thr54 do gene *Fatty Acid Binding Protein-2*

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas: Endocrinologia.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Friedman

Porto Alegre, 2016.

CIP - Catalogação na Publicação

Kops, Natália Luiza
Consumo alimentar e perfil lipídico de pacientes
candidatos à cirurgia bariátrica, portadores ou não do
alelo Thr54 do gene Fatty Acid Binding Protein-2
/ Natália Luiza Kops. -- 2016.
49 f.

Orientador: Rogério Friedman.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia, Porto
Alegre, BR-RS, 2016.

1. Proteínas de Transporte de Ácido Graxo. 2. Obesidade.
3. Polimorfismo Genético. 4. Predisposição Genética para
Doença. I. Friedman, Rogério, orient.
II. Título.

Agradecimentos

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais, Mário e Vera, pelo amor, apoio e carinho de sempre. Ao meu irmão, Daniel, pela sintonia e parceria. Ao meu namorado, Lucas, pelo amor e cumplicidade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rogério Friedman, pelo apoio constante, pelos conselhos, pelas conversas sempre relevantes. Obrigada pela oportunidade de continuar aprendendo e crescendo profissionalmente. Obrigada por nos mostrar e ensinar a conciliar a vida acadêmica, profissional e pessoal de forma tranquila e divertida.

Ao nosso grupo de pesquisa, às colegas e amigas Nut. Jaqueline Driemeyer Horvath e Mariana Laitano Dias de Castro, que há alguns anos me acompanham e que certamente viram minha satisfação e evolução na pesquisa.

Aos colegas e amigos do Mestrado pela amizade; do Laboratório de Endocrinologia pelas orientações e aos professores do PPG pelo aprendizado.

Às colegas e amigas do Hospital Moinhos de Vento e do Hospital da Restinga e Extremo Sul de Porto Alegre pelo incentivo e colaboração durante esse período.

Às minhas amigas que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Gratidão!

Formato de Dissertação:

Esta dissertação de mestrado segue o formato do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sendo apresentada na forma de:

1. Artigo de revisão referente a estudos de associação entre o FABP-2 e Índice de Massa Corporal, perfil lipídico e inflamatório.
2. Artigo original abordando o perfil lipídico de pacientes obesos graves com o polimorfismo Ala54Thr do gene FABP-2, controlando pelo consumo alimentar.

Conteúdo

Lista de Siglas.....	7
Lista de Tabelas e Figuras.....	9

Capítulo 1

Polimorfismo Ala54Thr do gene *Fatty Acid Binding Protein-2*: uma revisão bibliográfica

Resumo	11
Introdução	12
Estratégia de busca.....	13
Polimorfismo Ala54Thr do gene <i>Fatty Acid Binding Protein</i>	13
Associação do polimorfismo com parâmetros antropométricos	14
Associação do polimorfismo com perfil lipídico	15
Associação do polimorfismo com adipocitocinas circulatórias	17
Intervenção dietética e o polimorfismo Ala54Thr	18
Referências.....	20

Capítulo 2

Perfil lipídico e antropométrico de pacientes obesos graves portadores do alelo Thr54 do gene *Fatty Acid Binding Protein-2* considerando o consumo alimentar

Abstract.....	29
Introduction.....	30
Methods.....	31
Results.....	34
Discussion.....	35
References.....	38

Apêndices

Apêndice 1	47
Apêndice 2	49

Lista de Siglas

Capítulo 1

ÁG	Ácido graxo
AGCL	Ácido graxo de cadeia longa
ALA54	Alelo Alanina no códon 54
ALA54THR	Polimorfismo Ala54Thr (substituição do aminoácido Ala54 por Thr54)
APO B	Apolipoproteína B
CT	Colesterol total
DM	Diabetes Mellitus tipo 2
FABP	<i>Fatty Acid Binding Protein</i>
FABP-2	<i>Intestinal Fatty Acid Binding Protein</i>
FTO	<i>Fat Mass and Obesity Associated Protein</i>
HDL – c	Lipoproteína de alta densidade
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
LDL – c	Lipoproteína de baixa densidade
LEPR	<i>Leptin Receptor Gene</i>
MCR	<i>Melanocortin 4 Receptor</i>
PCR	Proteína C Reativa
POMC	<i>Pro-opiomelanocortin</i>
RI	Resistência insulínica
TG	Triacilgliceróis
THR54	Alelo Treonina no códon 54
TNF α	Fator de Necrose Tumoral

Capítulo 2

ALA54	Alanine allele
ALA54THR	Polymorphism Ala54Thr
BAI	Body Adiposity Index
BMI	Body Mass Index
BMR	Basal Metabolic Rate
CRP	C - Reactive Protein
DRI's	Dietary Reference Intakes
FA	<i>Fatty Acids</i>
FABP	<i>Fatty Acid Binding Protein</i>
FABP-2	<i>Intestinal Fatty Acid Binding Protein</i>
HC	Hip Circumference
HOMA	Homeostatic Model Assessment
IAC	Body Adiposity Index
IR	Insulin Resistance
MUAC	Mid-Upper Arm Circumference
R24h	24-hour dietary record
SD	Standard Deviations
LDL – c	Low Density Lipoprotein - cholesterol
HDL – c	High Density Lipoprotein - cholesterol
T2DM	Diabetes Mellitus Type 2
TCHOL	Total Cholesterol
TG	Triglyceride
WC	Waist Circumference
WHR	Waist-to-Hip Ratio

Lista de Tabelas e Figuras

Capítulo 1 - Polimorfismo Ala54Thr do gene *Fatty Acid Binding Protein-2*: uma revisão bibliográfica

Tabela 1. Estudos incluídos na revisão bibliográfica 24

Figura 1. Estão representados os papéis das FABP (*Fatty Acid Binding Protein*) como transportadoras de ácidos graxos e gerenciadoras da distribuição destes ácidos entre as organelas 26

Capítulo 2 - Lipid and anthropometric profile of severely obese patients carrying the Thr54 allele of the *Fatty Acid Binding Protein-2* gene considering food consumption

Table 1. Sociodemographic and clinical characteristics of the sample..... 41

Table 2. Differences between patients who complied or not to the 24-hour food records... 42

Table 3. Anthropometric characteristics of patients who joined the 24-hour dietary records, according to the polymorphism at codon 54 of the FABP-2 gene..... 43

Table 4. 24-hour dietary records average analysis according to the polymorphism at codon 54 of FABP-2 gene. 44

Table 5. Biochemical parameters of patients according to the polymorphism at codon 54 of the FABP-2 gene..... 45

Capítulo 1

Polimorfismo Ala54Thr do gene *Fatty Acid Binding Protein-2*: uma revisão bibliográfica

The *Fatty Acid Binding Protein-2* (FABP-2) polymorphism Ala54Thr: a literature review

RESUMO

O polimorfismo Ala54Thr (rs1799883) do gene *Fatty Acid Binding Protein-2* (FABP2) tem associação com resistência insulínica, síndrome metabólica e obesidade. A hipótese é de que o alelo mutante aumente a absorção de ácidos graxos intestinais, a concentração lipídica plasmática e a oxidação de gordura. Assim, o objetivo deste trabalho foi revisar o papel do polimorfismo Ala54Thr do gene FABP-2 no Índice de Massa Corporal (IMC), no perfil lipídico e inflamatório. A busca da literatura foi realizada na base de dados Medline, através do PubMed e no Portal de Periódicos da Capes. Parece não haver uma associação significativa da presença do alelo Thr54 com maior IMC, diferente do colesterol total e LDL-c. Possivelmente, alterações de adipocitocinas estejam associadas a estas diferenças de perfil lipídico. Se houver alguma associação entre Ala54Thr e obesidade, pode ser mascarada por outros fatores genéticos e ambientais e não ser captada por estudos de associação e intervenção.

Palavras-chave: Proteínas de Transporte de Ácido Graxo. Polimorfismo Genético. Obesidade. Predisposição Genética para Doença.

ABSTRACT

The Ala54Thr polymorphism (rs1799883) of *Fatty Acid Binding Protein-2* (FABP-2) gene has been associated with insulin resistance, metabolic syndrome and obesity. The hypothesis that the mutant allele increases the absorption of fatty acid by the bowel, the plasma lipid concentration and fat oxidation. Thus, the aim of this study was to review the role of Ala54Thr polymorphism FABP-2 gene in Body Mass Index (BMI), lipid and inflammatory profile. A literature search was conducted in Medline database, using Pubmed and Capes Portal. It does not seem to be a significant association between Thr54 allele carriers with higher BMI, unlike the total cholesterol and LDL-C. Possibly, adipocytokines changes are associated with these differences in lipid profile. If there any association between Ala54Thr and obesity, should be masked by other genetic and environmental factors and not be captured by association and intervention studies.

Keywords: Fatty Acid Transport Proteins. Polymorphism. Obesity. Genetic Predisposition to Disease.

Polimorfismo Ala54Thr do gene *Fatty Acid Binding Protein-2*: uma revisão bibliográfica

Introdução

A obesidade é uma doença multifatorial, resultante de interações genéticas e ambientais que causam uma disfunção crônica do balanço energético. Estudos recentes vem demonstrando um expressivo envolvimento do componente genético no seu desenvolvimento. A obesidade afeta mais de 600 milhões de pessoas, constituindo uma ameaça crescente à saúde da população mundial.¹

Evidências da influência genética na obesidade surgiram a partir de estudos controlados com a participação de gêmeos monozigóticos, os quais observaram que alguns indivíduos ganham ou perdem peso mais facilmente, mas estes indivíduos que compartilham o mesmo genótipo respondem de maneira similar, sugerindo que a responsividade à dieta é mediada pelo genótipo. Ademais, evidências advindas de estudos com genes candidatos, envolvidos em vias de consumo de energia e de ingestão alimentar, sugeriram uma notável influência desses genes na predisposição à obesidade.²

Ao longo da evolução humana foi necessário que o homem se adaptasse às carências nutricionais, infecções e traumas, acumulando mutações “favoráveis” que culminaram em um “genótipo poupador”. O progresso ininterrupto, porém, modificou o ambiente e a vida atual é de abundância. Neste cenário, o genoma selecionado na escassez se tornou “desfavorável”.³ No entanto, a frequência da obesidade mais que dobrou nos últimos 20 anos¹, não podendo, assim, ser explicada somente por modificações no genoma humano.

A busca por variantes genéticas que contribuem para a predisposição à obesidade iniciou em meados da década de 1990. Centenas de genes foram propostos como candidatos, atuando na regulação do peso corporal, entre eles o FTO (*Fat Mass And Obesity-Associated Protein*), o MC4R (*Melanocortin 4 Receptor*) e o POMC (*Pro-opiomelanocortin*); entretanto, apenas uma minoria se associa com predisposição à obesidade.^{4,5} Entre estes, um polimorfismo do gene *Fatty Acid Binding Protein 2* (FABP-2) se associa com o Índice de Massa Corporal (IMC) e o risco de obesidade.^{6,7,8} Assim, o objetivo deste trabalho foi revisar

o papel do polimorfismo Ala54Thr do gene FABP-2 no IMC, no perfil lipídico e inflamatório por meio de uma revisão da bibliografia.

Estratégia de busca

A busca da literatura foi realizada na base de dados Medline, através do PubMed e no Portal de Periódicos da Capes. ““Foram escolhidos termos relacionados, como “polymorphism”, “Ala54Thr”, “*Fatty Acid Binding Protein-2*”, “*obesity*”, “*body mass index*” e “*lipid profile*”. Estudo observacionais e de intervenção foram selecionados. A primeira etapa de seleção dos artigos resultantes da busca consistiu na leitura dos títulos e em seguida dos resumos a fim de verificar o preenchimento dos critérios de elegibilidade. Após separação dos artigos elegíveis, procedeu-se a leitura minuciosa de cada um dos artigos. A seleção dos artigos e extração dos dados foi realizada por dois investigadores, chegando-se a um consenso. Foram considerados estudos publicados até dezembro de 2015, em idiomas dominados pelos leitores (português, inglês e espanhol) e que abordassem associações do polimorfismo Ala54Thr do gene FABP2 com IMC, perfil lipídico ou inflamatório em adultos. Foram excluídos os artigos não originais (revisões, carta, editorial) e os não acessados na íntegra. Na **Tabela 1** se encontra os principais achados dos estudos incluídos nesta revisão.

Polimorfismo Ala54Thr do gene *Fatty Acid Binding Protein*

As FABP constituem uma família de proteínas ligantes de ácidos graxos (AG) com função importante no transporte, metabolismo e armazenamento destes ácidos, sendo propostas como reguladoras centrais do metabolismo lipídico, da inflamação e da homeostase energética (**Figura 1**).^{9,10} Estas proteínas foram identificadas pela primeira vez em 1972¹¹ e até hoje foram descritas nove isoformas das FABP, as quais apresentam estrutura e propriedades ligantes similares. Inicialmente, elas foram denominadas em função do local em que foram identificadas ou de regência onde podem ser encontradas em maior concentração;

contudo, como algumas são encontradas em múltiplos tecidos, está em uso uma nomenclatura numérica. As mais importantes foram isoladas a partir do fígado (L-FABP OU FABP-1), intestino (I-FABP ou FABP-2), coração (H-FABP ou FABP3), adipócitos (A-FABP ou FABP4), epiderme (E-FABP ou FABP5) e cérebro (B-FABP ou FABP7).¹²

O gene FABP-2 está localizado na região cromossomal 4q28–4q31¹³ e codifica uma proteína citoplasmática expressa exclusivamente pelas células do epitélio absorptivo do intestino delgado, especialmente na porção proximal, apresentando expressão máxima nos enterócitos do jejuno¹⁴. As FABP-2 são ligadoras específicas de AG, especialmente os de cadeia longa, com elevada afinidade tanto para AG saturados como insaturados.⁶

Entre os diversos polimorfismos do gene FABP-2, o Ala54Thr é um exemplo de SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*), decorrente de uma substituição da guanina por uma adenina no códon 54 do exon 2, resultando na permutação do aminoácido alanina (Ala) por treonina (Thr). Em 1995 se descobriu que o alelo mutante Thr54 (rs1799883) tem afinidade duas vezes maior para o ácido graxo de cadeia longa (AGCL) e secreta ésteres de colesterol e triglicerídeos de forma mais eficiente do que o tipo selvagem. Logo, a hipótese é de que o alelo Thr54 aumente a absorção de AG dietéticos pelo intestino, a concentração lipídica plasmática e, assim, aumente a oxidação de gordura.⁶ A presença de somente um alelo Thr54 parece ser suficiente para apresentar algum efeito quando comparado aos homozigotos Ala54; contudo, indivíduos homozigotos Thr54 parecem sofrer um efeito ainda maior. Nesses 20 anos de estudos, embora os papéis fisiológicos da FABP-2 não estejam completamente elucidados, o Ala54Thr vem sendo associado com síndrome metabólica¹⁵, resistência à insulina (RI)⁶ e obesidade.^{7,8,16}

Estima-se que a frequência do polimorfismo Ala54Thr seja em torno de 30% na população em geral.¹⁷ No entanto, Canani (2005) encontrou uma frequência do alelo Thr54 de 25% em uma amostra de 493 indivíduos brasileiros com DM2;¹⁸ similar à frequência encontrada em um estudo realizado com indivíduos obesos graves (43.7% Ala54Thr e 3.6% Thr54Thr - frequência alélica de 0.25).¹⁹

Associação do polimorfismo com Índice de Massa Corporal

O polimorfismo Ala54Thr tem sido associado com obesidade;^{7,8,16,20} todavia, os resultados são conflitantes e inconclusivos.^{15,21,22,23} Hegele (1996), ao avaliar a variação no IMC em 507 aborígenes canadenses, encontrou uma associação significativa do alelo Thr54 com maior IMC e percentual de gordura corporal.⁷ Outro estudo, com 249 nipo-americanos, diagnosticados como não diabéticos, sugere que a diferença de gênero deve ser considerada ao associar o IMC com o polimorfismo.²¹

Uma metanálise realizada por Zaho e colaboradores (2010) não encontrou evidências de que o polimorfismo Ala54Thr tenha associação significativa com IMC [Diferença média padronizada (DMP): -0.00 (-0.16-0.15), $p = 0.99$], mesmo após categorizado por sexo e etnia. O estudo incluiu 27 artigos (10974 indivíduos) publicados até 2009.²³ Outra recente metanálise (2015) reforçou o encontrado no estudo anterior [OR 1.07 (0.93-1.23)]; entretanto, esta incluiu apenas 9 estudos (2951 indivíduos).²⁴ Em contraste, uma 3ª metanálise (2015) indicou associação significativa do Thr 54 com IMC elevado em populações asiáticas [OR 1.15 (1.02-1.30)]. Cabe ressaltar que esta incluiu 5 estudos de caso-controle (1519 obesos e 2025 controles), sendo um deles do próprio autor.²⁵ A falta de concordância entre os estudos reflete as limitação destas metanálises, tais como amostras de pequenas dimensões, diferença étnica, gênero e metodologia de pesquisa. Presume-se que estas características possam contribuir para as diferenças em estudos de associação entre o polimorfismo Ala54Thr e a obesidade.

Assim, parece não haver uma associação significativa entre o polimorfismo com maior IMC, o que sugere que a substituição de aminoácidos Ala para Thr não afeta o fenótipo relacionado com a obesidade. No entanto, a associação nula do polimorfismo com IMC em alguns estudos não indica necessariamente ausência de efeito do polimorfismo no que se refere à obesidade, uma vez que esta é uma doença que usualmente se origina da interação de múltiplos genes, fatores ambientais e comportamentais. Significa, na realidade, que os genes podem modular a forma como os indivíduos respondem às variações ambientais e que estas discretas e constantes alterações podem não ser captadas por estudos de associação. Devido à importância da função da proteína FABP2 quanto à absorção de ácidos graxos, acredita-se

que deve haver uma relação da mutação com obesidade, por isso é importante que se aprofunde o conhecimento do mecanismo de ação da proteína, já que os dados encontrados são escassos.

Associação do polimorfismo com perfil lipídico

Alguns estudos mostram que portadores do alelo Thr54 têm níveis séricos de lipídios elevados em relação aos portadores do alelo homozigoto Ala54; no entanto, estes achados não foram controlados para o consumo alimentar dos indivíduos, o qual poderia ser responsável pela diferença no nível sérico dos lipídios.^{7,8,15,26,27}

O *Framingham Offspring Study* (2001) (n=1930) concluiu que portadores Thr54 possuem uma maior absorção de lipídios pelos enterócitos, levando a um aumento na secreção de quilomícrons, já que encontrou valores aumentados de LDL-c e apolipoproteína B (ApoB) em homens Thr54, e de CT e HDL-c em mulheres Thr54.²⁶ Por outro lado, um estudo semelhante (n=1022) associou o polimorfismo com menor CT e LDL-c em ambos os sexos, novamente mostrando resultados contraditórios.²⁸ Nesses estudos, os componentes dietéticos não foram avaliados, sendo um possível viés. Nesse sentido, por exemplo, Hegele e colaboradores (1997) mostraram que, quando comparados com homozigotos Ala54, os indivíduos portadores do alelo Thr54 apresentaram uma diminuição significativa do CT, LDL-c e ApoB após uma dieta rica em fibras solúveis.²⁹

Em pacientes com DM2, a presença do polimorfismo Ala54Thr foi associada a valores elevados de triacilgliceróis (TG).¹⁸ Além disso, também em pacientes com DM2, após sobrecarga lipídica, um aumento nos triacilgliceróis plasmáticos foi observado em pacientes homozigotos Thr54 quando comparado aos pacientes homozigotos Ala54, o que pode indicar uma susceptibilidade aumentada ao efeito dos lipídios da dieta em portadores do alelo mutado.^{30,31}

Uma metanálise com 30 estudos (14.401 indivíduos) mostrou uma associação do polimorfismo com níveis aumentados de colesterol total (CT) [DMP = 0.07 (0.02-0.11), p = 0.005] e lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) [DMP = 0.09 (0.03-0.15), p = 0.002], e

valores diminuídos de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) [DMP = -0.05 (-0.09, -0.00), $p = 0.04$], sugerindo que o polimorfismo está significativamente associado com níveis séricos dos lipídios plasmáticos.³² Este estudo foi realizado pelo mesmo autor (Zaho e colaboradores, 2010) e incluiu os mesmos 30 artigos da metanálise que associou o polimorfismo com IMC.

Esse polimorfismo também foi associado à presença de nefropatia diabética¹⁸, síndrome metabólica¹⁵, resistência insulínica^{6,19,33} e susceptibilidade a doenças cardiovasculares.³⁴

Diferentemente do IMC, nossa revisão sugere uma forte associação do polimorfismo com níveis aumentados de CT, LDL-c e menores níveis séricos de HDL-c. O efeito do Ala54Thr existe especialmente em descendentes de europeus, asiáticos e indivíduos do sexo feminino. A hipótese de que indivíduos com o alelo Thr54 possuem maior absorção intestinal de ácidos graxos e que isto está associado com maiores níveis de CT e LDL-C é uma explicação plausível para a associação do polimorfismo Ala54Thr com CT e LDL-C.

Associação do polimorfismo com adipocitocinas circulatórias

O tecido adiposo é um órgão multifuncional, produtor e secretor de inúmeros peptídeos e proteínas bioativas, denominadas adipocitocinas. Alterações na quantidade de tecido adiposo, como ocorrem na obesidade, afetam a produção da maioria desses fatores secretados pelos adipócitos. Elevações nos níveis séricos de ácidos graxos livres levam ao acúmulo de TG no adipócito, associando-se com um desequilíbrio da atividade da lipase lipoproteica e um excesso de produção de adipocinas.¹⁹ Citocinas inflamatórias, incluindo as interleucinas IL-6 e IL-1 e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) estão aumentados em obesos, acompanhados de altos níveis de proteína C reativa (PCR).³⁵

Os valores de PCR, marcador inflamatório produzido pelo fígado, foram maiores nos indivíduos com genótipo Ala54Thr, possivelmente devido a uma resposta de absorção pós-prandial alterada de AG.^{19,36} De Luis e colaboradores (2007) encontraram associação entre o fenótipo mutante (Ala54Thr e Thr54Thr) e maiores níveis de PCR, IL-6 e lipoproteína A.³⁷

Os autores especulam que estas diferenças se devam à maior quantidade de tecido adiposo que foi observada nos portadores do alelo Thr54.

A leptina é um hormônio secretado pelos adipócitos, cujos efeitos sobre o sistema nervoso simpático e função endócrina são parte ativa no controle do dispêndio energético e do apetite. De Luis e colaboradores (2009) encontraram níveis menores de adiponectina e níveis maiores de leptina em indivíduos obesos mórbidos com o alelo Thr54;¹⁹ por outro lado, não encontraram diferenças significativas em valores basais de LDL-c ou TG entre pacientes do grupo selvagem e mutante, sugerindo que o efeito deste polimorfismo no metabolismo poderia ser mediado diretamente por adipocitocinas. Esses dados também foram relatados por Albala e colaboradores (2004), que encontraram níveis maiores de leptina e TNF- α entre homozigotos Thr54.³³

Em relação às adipocitocinas, ainda há poucos estudos para permitir uma conclusão positiva ou negativa de associação com o polimorfismo. Mais estudos são necessários para elucidar as relações complexas entre metabolismo de lipoproteínas, armazenamento de gordura, marcadores inflamatórios e alelo Thr54.

Intervenção dietética e o polimorfismo Ala54Thr

Estudos de intervenção mostram uma diferente resposta à gordura dietética nos portadores do polimorfismo Ala54Thr. Após uma dieta rica em gordura saturada, conforme dados de um questionário sobre a alimentação do último mês, portadores do alelo mutante apresentaram menores níveis de HDL-c, maior CT, LDL-c e TG.³⁸ O mesmo ocorreu em uma dieta rica em AG trans: indivíduos com duas cópias da variante Thr54Thr apresentaram uma maior elevação dos níveis de triglicerídeos após o consumo de refeições ricas em AG trans.³⁹ Em um estudo de cross-over, indivíduos sadios foram randomizados e foi constatado que os portadores do polimorfismo Thr54 apresentaram uma maior redução na sensibilidade periférica à ação da insulina e maiores valores de AG livres após uma dieta rica em AG saturado em comparação a um igual período (4 semanas) em dieta rica em AG monoinsaturados ou em carboidratos.⁴⁰

Ao submeter 109 indivíduos com IMC maior de 25kg/m² a uma intervenção nutricional, os portadores do alelo Thr54 responderam melhor a uma dieta moderada em gordura do que homozigotos Ala54. Após 2 meses em dieta com 30% de gordura (gordura saturada <7%, monoinsaturada 10-15% e, poli-insaturada 10%, do total de calorias), 15% de proteína e 55% de carboidrato, indivíduos com alelo mutante, quando comparados com Ala54Ala, diminuíram significativamente peso ($7.5 \pm 1.2\text{kg}$ vs. $4.2 \pm 0,7\text{kg}$), IMC ($2.1 \pm 0.9\text{kg/m}^2$ versus $1.2 \pm 0.2 \text{ kg/m}^2$), circunferência de cintura ($7.6 \pm 0.6\text{cm}$ vs. $5.2 \pm 0.4\text{cm}$) e proteína C reativa ($1.4 \pm 0.18\text{mg/L}$ vs. $0.76 \pm 0.2\text{mg/L}$) ($p<0,05$).⁴¹

Além disso, após uma modificação no estilo de vida, incluindo dieta hipocalórica e exercício aeróbico, obesos portadores do alelo Thr54 tiveram significante redução de pressão arterial sistólica e níveis de glicose. Já os indivíduos com genótipo selvagem tiveram redução significativa na massa de gordura corporal, LDL-c e níveis de leptina.¹⁷ Outro estudo, com 80 mulheres obesas japonesas e 146 controles, todos com intervenção dietética de 1200 kcal/dia (60% carboidrato, 20% gordura) e exercício físico por 6 meses, concluiu que o alelo Thr54 está associado com menor taxa metabólica de repouso e maior circunferência da cintura após intervenção, mostrando maior resistência em reduzir o tecido adiposo visceral, além de início precoce da obesidade.²⁰

A gravidade clínica da resistência à insulina e o seu efeito sobre a homeostase da glicose dependem da composição de AG da dieta. Uma maior absorção de AG poli-insaturados (ômega-3) melhora a sensibilidade à insulina, contrastando com o efeito oposto encontrado na absorção aumentada de AG saturados. Portanto, o polimorfismo Ala54Thr do FABP-2 pode ser potencialmente prejudicial em indivíduos que consomem uma dieta rica em gordura saturada.

Concluindo, o polimorfismo Ala54Thr parece não estar associado à obesidade, apesar de ser uma doença complexa e que possivelmente não tenha sido captada por estudos de associação. Ainda assim, os estudos sugerem que portadores do alelo mutante Thr54 apresentam maiores níveis de CT e LDL. Possivelmente, alterações de adipocitocinas estejam associadas a estas diferenças de perfil lipídico. As múltiplas interações gene/ambiente - estilo de vida, atividade física e alimentação saudável - influenciam o potencial efeito do polimorfismo, justificando as dificuldades de se elucidar o mecanismo e as associações do polimorfismo no organismo.

REFERÊNCIAS

- 1 WHO. World Health Organization. Obesity and overweight. 2015.
- 2 Loos RJF, Rankinen T. Gene-diet interactions on body weight changes. *J Am Dietetic Assoc*, v. 105, p. S29-S34, 2005.
- 3 Chakravarthy MV, Booht FW. Eating, exercise, and "thrifty" genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *J Appl Physiol*, 96(1):3-10, jan 2004.
- 4 Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity*, n. 14, p.529-644, abr. 2006.
- 5 Loos RJF. Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, v. 26, n.2, p. 211-226, abr. 2012.
- 6 Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, et al. An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation, and insulin resistance. *J Clin Invest*, New York, v.95, p.1281-1287, mar. 1995.
- 7 Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Sadikian S, Connelly PW, Zinman B. Genetic variation of intestinal fatty acid-binding protein associated with variation in body mass in aboriginal Canadians. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 81, p. 4334-4337, 1996.
- 8 Nakanishi S, Yamane K, Kamei N, Okubo M, Kohno N. The effect of polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein 2 gene on fat metabolism is associated with gender and obesity amongst non-diabetic Japanese-Americans. *Diabetes Obes Metab*, Hiroshima, v. 6, p. 45-49, jan. 2004.
- 9 Thumser AE, Moore JB, Plant NJ. Fatty acid binding proteins: tissue-specific functions in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 17(2):124-9, mar 2014.
- 10 Curi R, Pompéia C, Myasaka CK, Procopio J. Entendendo a gordura: os ácidos graxos. São Paulo: Manole. Cap 9, p. 93 a 108; 2002.
- 11 Ockner RK, Manning JA, Poppenhausen RB, Ho WK. A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa, liver, and other tissues. *Science*, San Francisco, n. , p.51-70, 7 jul. 1972.
- 12 Storch J, Thumser AE. Tissue-specific functions in the fatty acid-binding protein family. *J Biol Chem*, United Kingdom, v. 285, p. 32679-32683, out. 2010.

- 13 Sparkes RS, Mohandas T, Heinzmann C, Gordon JI, Klisak I, Zollman S, et al. Human fatty acid binding protein assignments: intestinal to 4q28-4q31 and liver to 2p11. *Cytogenet Cell Genet* 1987; 46: 697.
- 14 Gajda AM, Storch J. Enterocyte fatty acid-binding proteins (FABPs): different functions of liver and intestinal FABPs in the intestine. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2015 Feb;93:9-16. Epub 2014, out. 14.
- 15 Vimalaswaran KS, Radha V, Mohan V. Thr54 allele carriers of the Ala54Thr variant of FABP2 gene have associations with metabolic syndrome and hypertriglyceridemia in urban South Indians. *Metab. Clin. Exp., Chennai*, n. , p.1222-1226, 2006.
- 16 Tavridou A, Arvanitidis I, Tiptiri-Kourpeti A, Petridis I, Ragia G, Kyroglou S, et al. Thr54 allele of fatty-acid binding protein 2 gene is associated with obesity but not type 2 diabetes mellitus in a Caucasian population. *Diabetes Res Clin Pract* v. 84, n. , p.132-137, 2009.
- 17 de Luis DA, Aller R, Izaola O, Sagrado MG, Conde R. Influence of ALA54THR Polymorphism of Fatty Acid Binding Protein 2 on Lifestyle Modification Response in Obese Subjects. *Ann Nutr Metab, Spain*, n., p.354-360, 2006.
- 18 Canani LH, Capp C, Ng DP, Choo SG, Maia AL, Nabinger GB, et al. The fatty acid-binding protein-2 A54T polymorphism is associated with renal disease in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Porto Alegre*, v. 54, n. , p.3326-3330, nov. 2005.
- 19 de Luis DA1, Sagrado MG, Aller R, Izaola O, Conde R, Romero E. Ala54Thr polymorphism of fatty acid binding protein 2, role on insulin resistance and cardiovascular risk factors in presurgical morbid obesity patients. *Obes Surg, Spain*, v. 12, n. 19, p.1691-1696, dez. 2009.
- 20 Takakura Y, Yoshioka K, Umekawa T, Kogure A, Toda H, Yoshikawa T, et al. Thr54 allele of the FABP2 gene affects resting metabolic rate and visceral obesity. *Diabetes Res Clin Pract, Kyoto*, v. 67, n. 1, p.36-42, jan. 2005.
- 21 Yamada K, Yuan X, Ishiyama S, Koyama K, Ichikawa F, Koyanagi A, et al. Association between Ala54Thr substitution of the fatty acid-binding protein 2 gene with insulin resistance and intra-abdominal fat thickness in Japanese men. *Diabetologia*, v. 40, n. , p.706-710, 1997.
- 22 Sipiläinen R, Uusitupa M, Heikkinen S, Rissanen A, Laakso M. Variants in the human intestinal fatty acid binding protein 2 gene in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 82, n. 8, p.2629-2632, aug. 1997.
- 23 Zhao T, Zhao J, Lv J, Nzekebaloudou M. Meta-analysis on the effect of the Ala54Thr polymorphism of the fatty acid-binding protein 2 gene on body mass index. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, v. 21, n. 10, p.823-829, jun. 2010.

- 24 Li Z, Ni CL, Niu WY, Chang BC, Chen LM. The intestinal fatty acid binding protein-2 Ala54Thr polymorphism is associated with diabetic retinopathy in Chinese population. *Diabetol Metab Syndr*. 2015 Mar 21;7:23.
- 25 Shabana, Hasnain S. The fatty acid binding protein 2 (FABP2) polymorphism Ala54Thr and obesity in Pakistan: A population based study and a systematic meta-analysis. *Gene*. 2015 Dec 10;574(1):106-11. Epub 2015 Aug 1.
- 26 Galluzzi JR, Cupples LA, Otvos JD, Wilson PW, Schaefer EJ, Ordovas JM. Association of the A/T54 polymorphism in the intestinal fatty acid binding protein with variations in plasma lipids in the Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis*, v. 159, n. 2, p.417-424, dez. 2001.
- 27 de Luis DA, Sagrado MG, Izaola O, Terroba MC, Cuellar L, Conde R, et al. Influence of Ala54Thr polymorphism of fatty acid-binding protein-2 on clinical results of biliopancreatic diversion. *Nutrition, Spain*, v. 4, n. 24, p.300-304, abr. 2008.
- 28 Duarte NL, Colagiuri S, Palu T, Wang XL, Wilcken DE. Obesity, Type II diabetes and the Ala54Thr polymorphism of fatty acid binding protein 2 in the Tongan population. *Mol Genet Metab*. 2003 Jul;79(3):183-8.
- 29 Hegele RA, Wolever TM, Story JA, Connelly PW, Jenkins DJ. Intestinal fatty acid-binding protein variation associated with variation in the response of plasma lipoproteins to dietary fibre. *Eur J Clin Invest, Toronto*, v. 27, p. 857-862, 1997.
- 30 Georgopoulos A, Aras O, Tsai MY. Codon-54 polymorphism of the fatty acid-binding protein 2 gene is associated with elevation of fasting and postprandial triglyceride in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 85, n. 9, p.3155-3160, 2000.
- 31 Almeida JC, Gross JL, Canani LH, Zelmanovitz T, Perassolo MS, Azevedo MJ. The Ala54Thr polymorphism of the FABP2 gene influences the postprandial fatty acids in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 95:3909-3917, 2010.
- 32 Zhao T, Nzekebaloudou M, Lv J. Ala54Thr polymorphism of fatty acid binding protein 2 gene and fasting blood lipids: a metaanalysis. *Atherosclerosis*, v. 210, n. 2, p.461-467, jun2010.
- 33 Albala C, Santos JL, Cifuentes M, Villaruel AC, Lera L, Liberman C. Intestinal FABP2 A54T polymorphism: association with insulin resistance and obesity in women. *Obes Res*, v. 12, n. 2, p.340-345, fev. 2004.
- 34 Carlsson M, Orho-Melander M, Hedenbro J, Almgren P, Groop LC. The T 54 allele of the intestinal fatty acid-binding protein 2 is associated with a parental history of stroke. *J Clin Endocrinol Metab, Sweden*, v. 85, n. 8, p.2801-2804, 1 ago. 2000.
- 35 Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*, v. 29, n. , p.415-445, 2011.

- 36 Agren JJ, Vidgren HM, Valve RS, Laakso M, Uusitupa MI. Postprandial responses of individual fatty acids in subjects homozygous for the threonine- or alanine-encoding allele in codon 54 of the intestinal fatty acid binding protein 2 gene. *Am J Clin Nutr*, Kuopio, v. 73, n. 1, p.31-35, jan. 2001.
- 37 de Luis DA, Sagrado MG, Aller R, Izaola O, Conde R. Influence of ALA54THR Polymorphism of Fatty Acid Binding Protein 2 on obesity and cardiovascular risk factors. *Horm Metab Res*, Spain, v. 11, n. 39, p.830-834, nov. 2007.
- 38 Chamberlain AM, Schreiner PJ, Fornage M, Loria CM, Siscovick D, Boerwinkle E. Ala54Thr polymorphism of the fatty acid binding protein 2 gene and saturated fat intake in relation to lipid levels and insulin resistance: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Metabolism - Clinical And Experimental*, Houston, v. 58, n. 7, p.1222-1228, set. 2009.
- 39 Lefevre M, Lovejoy JC, Smith SR, Delany JP, Champagne C, Most MM, et al. Comparison of the acute response to meals enriched with cis- or trans-fatty acids on glucose and lipids in overweight individuals with differing FABP2 genotypes. *Metabolism*, v. 54, p.1652-1658, 2005.
- 40 Marín C, Pérez-Jiménez F, Gómez P, Delgado J, Paniagua JA, Lozano A, et al. The ala54 polymorphism of the fatty acid-binding protein 2 gene is associated with a change in insulin sensitivity after a change in the type of dietary fat. *Am J of Clin Nutr*, v. 82, p.196-200, 2005.
- 41 Martinez-Lopez E, Garcia-Garcia MR, Gonzalez-Avalos JM, Maldonado-Gonzalez M, Ruiz-Madrigal B, Vizmanos B, et al. Effect of Ala54Thr polymorphism of FABP2 on anthropometric and biochemical variables in response to a moderate-fat diet. *Nutrition*, Guadalajara, v. 29, n. 1, p. 46-51, jul. 2012.

Tabela 1. Estudos incluídos na revisão bibliográfica.

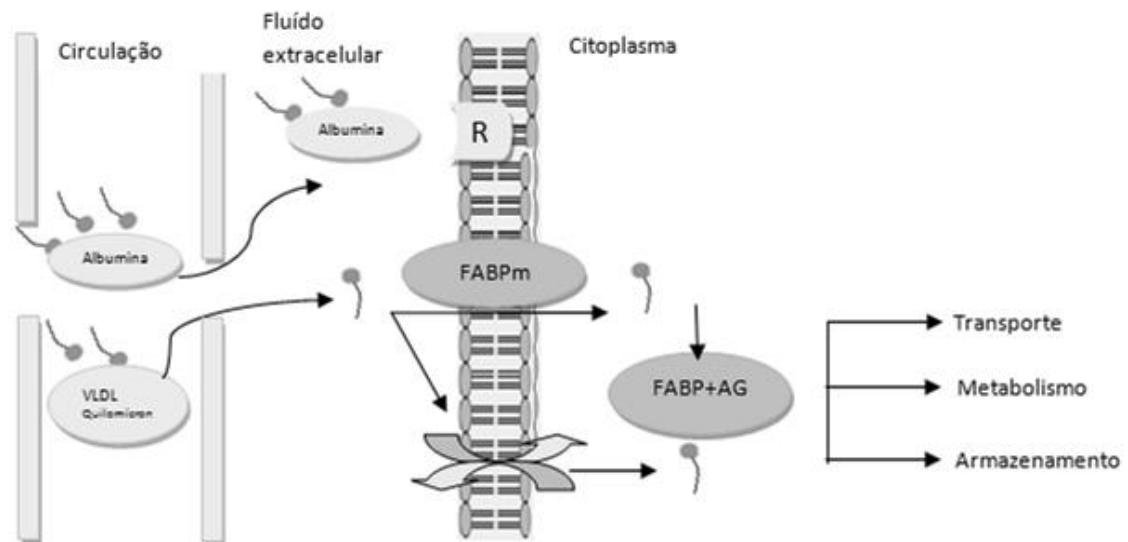
1º Autor / Ano	Ref Nº	Delineamento / Intervenção	Amostra	Frequencia Thr54	Achados do Alelo Thr54
Baier, 1995	6	Intervenção: refeição de teste padrão	760 Índios Pima	0.29	Oxidação lipídica, hiperinsulinemia, RI e maior afinidade para AG de cadeia longa
Hegele, 1996	7	Associação	507 aborígenes canadenses	0.14	Maior IMC, TG e percentual de gordura corporal
Hegele, 1997	29	Intervenção: dieta rica em fibra solúvel vs. insolúvel	43 canadenses	0.27	Maior diminuição LDL-c e ApoB após dieta rica em fibra solúvel
Sipilainen, 1997	22	Associação	170 finlandeses obesos	0.29	Nenhuma diferença encontrada
Yamada, 1997	21	Associação	395 homens japoneses	0.34	RI e gordura visceral
Carlsson, 2000	34	Associação	213 pares de irmãos (Suécia)	0.23	Maior TG e CT. Pais com maior prevalência de Acidente Vascular Cerebral
Agreen, 2001	36	Intervenção: refeição de teste padrão	15 finlandeses	-	Aumento pós-prandial de AG com 14-18 carbonos em quilomicrons, mas sem alteração nas quantidades de AG.
Galluzzi, 2001	26	Associação	1930 participantes do <i>Framingham Offspring Study</i>	0.27	Perfil de lipoproteína mais aterogênico. LDL-c e ApoB em homens e LDL-c e CT em mulheres
Duarte, 2003	28	Associação	1022 tonganeses	0.12	Menor CT e LDL-c
Albala, 2004	33	Caso-controle	33 obesas vs. 30 não obesas (Chile)	0.47 vs. 0.31	Obesidade, TNF α , leptina e RI
Nakanishi, 2004	8	Associação	249 nipo-americanos não diabéticos	0.39	TG em homens não obesos; LDL-c e IMC em mulheres
Canani, 2005	18	Associação	1042 brasileiros com DM2	0.25	Doença renal
Lefevre, 2005	39	Intervenção: 2 refeições enriquecidas em C18:1 <i>trans</i> C18:1 <i>cis</i>	22 americanos	-	Aumento da glicose pós-prandial mas não de TG; maior lipogênese após consumo de uma refeição em que o C18:1 <i>cis</i> foi substituído por <i>trans</i>
Marin, 2005	40	Intervenção: 3 tipos de dieta	59 jovens espanhóis saudáveis	0.29	Redução da RI quando AG saturados foram substituídos por monoinsaturados e carboidratos
Takakura, 2005	20	Caso-controle e Intervenção: dieta e atividade física	80 japonesas com IMC $\geq 25\text{kg/m}^2$ vs. 146 controles	0.38 vs. 0.32	Maior peso aos 20 anos, menor TMB e maior CC após intervenção
De Luis, 2006	17	Intervenção: 3 meses de dieta mediterrânea + atividade física	69 espanhóis com IMC $\geq 30\text{kg/m}^2$ sem DM2	0.31	Maior diminuição da pressão arterial sistólica e níveis de glicose. Ala54Ala tiveram maior redução de gordura corporal, LDL-c e leptina
Vimaleswaran, 2006	15	Caso-controle	773 indianos com DM vs. 899 controles	0.30 vs. 0.28	Síndrome metabólica e TG

De Luis, 2007	37	Associação	226 espanhóis com IMC \geq 30kg/m ² sem DM	0.30	Maior PCR, Interleucina-6 e Lipoproteína A
Chamberlain, 2009	38	Associação	2148 participantes do <i>CARDIA</i>	0.24	Maior HOMA-IR na presença de alta ingestão de AG saturados
De Luis, 2009	19	Associação	55 espanhóis obesos graves	0.25	RI, leptina e adiponectina
Tavridou, 2009	16	Caso-controle	242 grego-caucasianos com DM2 vs. 188 controles	0.31 vs. 0.26	Sem diferença entre casos e controles. Thr54Thr associado com obesidade
Almeida, 2010	31	Intervenção: refeição de teste padrão	26 brasileiros com DM2	-	Maior absorção de AG dietéticos
De Luis, 2008	27	Intervenção: cirurgia bariátrica	41 espanhóis obesos graves	0.25	Nenhum efeito sobre perda de peso ou resultados clínicos após 1 ano de cirurgia bariátrica
Zaho, 2010	23	Metanálise	27 estudos - 10974 participantes	0.49 Ala54Thr + Thr54Thr	Nenhuma diferença encontrada
Martinez-Lopez, 2012	41	Intervenção: dieta com 30% de gordura	109 com IMC \geq 25kg/m ²	0.51 Ala54Thr + Thr54Thr	Maior diminuição do peso, IMC, CC, CC/CQ e PCR
Li, 2015	24	Caso-controle	810 chineses com DM2 (420 com retinopatia e 390 controle)	0.39 vs. 0.29	Retinopatia diabética
Shabana, 2015	25	Caso-controle	569 paquistaneses obesos vs. 446 controle	0.42 vs. 0.33	Obesidade, CT e LDL-c
		Metanálise	6 estudos com pop. asiáticas	-	Obesidade

Legenda: RI: resistência insulínica; AG: ácidos graxos; IMC: índice de massa corporal; TG: triglicerídeos; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade; ApoB: apolipoproteína B; CT: colesterol total; TNF α : tumor de necrose tumoral- α ; TMB: taxa metabólica basal; CC: circunferência da cintura; PCR: proteína C reativa; CC/CQ: razão cintura/quadril.

FIGURA 1 - Papéis das FABPs (*Fatty Acid Binding Proteins*) como transportadoras de ácidos graxos e gerenciadoras da distribuição destes ácidos entre as organelas.

FABP = *Fatty Acid Binding Protein*; AG = ácido graxo; VLDL = Lipoproteína de Densidade Muito Baixa; FABPm = Proteína Transportadora de ácido graxo; R = receptor de membrana de albumina;



Os AG são transportados por quilomícrons, VLDL ou albumina no fluxo sanguíneo e são incorporados pelo processo de “flip-flop” ou transportados para o interior da célula com o auxílio de uma proteína de membrana. Parte dos AG provém de síntese interna ou da hidrólise dos fosfolipídios da membrana. Quando ligados às FABP, os AG podem ser distribuídos pelas organelas e são utilizados na oxidação e geração de energia, além de desempenharem funções na regulação da transcrição gênica. Podem, ainda, ser estocados em triacilgliceróis ou ser esterificados nos fosfolipídios.

Capítulo 2

Perfil lipídico e antropométrico de pacientes obesos graves portadores do alelo Thr54 do gene *Fatty Acid Binding Protein-2* considerando o consumo alimentar

*Lipid and anthropometric profile of severely obese patients carrying the Thr54 allele of the *Fatty Acid Binding Protein-2* gene considering food consumption*

REVISTA DE ESCOLHA

British Journal of Nutrition

(Artigo já submetido para publicação)

AUTHORS:

Natalia Luiza Kops^{1,2}, Jaqueline Driemeyer Correia Horvath^{1,2}, Mariana Laitano Dias de Castro^{1,2}, Rogério Friedman^{1,2}

¹Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Serviço de Endocrinologia. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, BR

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina - Programa de Pós graduação em Ciências Médicas: Endocrinologia. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, BR

RUNNING TITLE: FABP-2 Ala54Thr Polymorphism: Food Intake

CONTACT INFO:

Rogério Friedman

Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Rua Ramiro Barcelos, 2.350 / Porto Alegre – RS. CEP 90035-903

Fone: 55 51 33598000 ou Fax: 55 51 33598001

E-mail: rogeriofriedman@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: The Ala54Thr variant of the *Fatty Acid Binding Protein-2* (FABP-2) gene (rs1799883) appears to increase the absorption of intestinal dietary fatty acids (FA), the plasma lipid concentration, and, thus, leads to higher fat oxidation. Food intake may be a factor to control for. *Objective:* To evaluate the anthropometric and lipid profile of bariatric surgery candidates according to the presence of the Thr54 allele, taking into account the dietary intake. *Methods:* Cross-sectional study with 120 patients under evaluation for bariatric surgery. All were asked to make 24-hour dietary records (R24h) for 3 days, and to collect a simultaneous 24-hour urine sample for assessment of the adequacy of food records (protein intake was assessed by urinary urea); anthropometric examination, physical activity and quality of life were analyzed; blood for laboratory and genetic evaluations (DNA amplification technique in real time) was collected. *Results:* When considering the whole sample, no significant differences were found; however, those who complied with the R24h showed fewer years of schooling and lower saturated fat consumption, higher weight and body mass index (BMI). When analyzing only these patients (n=43), the mutant allele carriers showed higher body weight (p=0.021), BMI (p=0.029), hip circumference (p=0.018), basal metabolic rate (p=0.022) and Homa.Beta (p=0.041) compared to those who were homozygous Ala54. *Conclusions:* In this study, the Thr54 carriers who complied with the R24h showed higher anthropometric parameters and higher Homa.Beta values than the wild genotype.

Key words: Fatty Acid Binding Protein 2. Single Nucleotide Polymorphism. Obesity. Blood lipids. Food Consumption

INTRODUCTION

The World Health Organization estimates that 500 million adults are obese worldwide and the main factor for this epidemic seems to be the environmental change that promotes excessive caloric intake and low energy expenditure.¹ Meanwhile, the expression of the obese phenotype and the development of the disease seem also to require some genetic predisposition.

The search for genetic variants that contribute to the predisposition to obesity began in the mid-1990s. Hundreds of genes have been proposed as candidates; however, only a minority have shown an association with susceptibility to obesity.^{2,3} Among them, the Ala54Thr variant of the FABP-2 gene (*Fatty Acid Binding Protein-2*) has been associated with higher body mass index (BMI)⁴⁻⁷, metabolic syndrome⁸ and insulin resistance (IR)⁴. This is a *Single Nucleotide Polymorphism*, resulting in from substitution threonine (Thr) for alanine (Ala) at codon 54 (rs1799883).

The FABP-2 gene is located on chromosome 4's long arm, and encodes an intracellular protein of the intestinal mucosa, responsible for the absorption and intracellular transport of fatty acids (FA). First identified in 1972, to date nine types of FABP (*Fatty Acid Binding Protein*), have been described.⁹ These proteins bind to FA, and are important for the transfer of these acids across the cell membrane. The FABP-2 is expressed in enterocytes and limited to the small intestine, especially in the proximal portion.¹⁰

The first described Ala54Thr association was with IR, in 1995, when it was discovered, by microcalorimetry, that the Thr54 mutant allele had two times greater affinity for the long chain fatty acid than the wild type. Thus, the hypothesis is that the Thr54 allele increases the absorption of dietary FA by the bowel, the plasma lipid concentration, and thus, leads to higher fat oxidation.⁴ Some studies show that Thr54 allele carriers have higher serum lipids levels than the homozygous Ala54; however, these findings were not controlled for the dietary intake of the subjects, which could account for the difference in serum lipids.^{5,6,8,11,12}. Intervention studies have shown a different response to dietary fat in patients of Ala54Thr polymorphism.¹³⁻¹⁶

The aim of this study was to evaluate the possible association between the Thr54 allele with anthropometric and lipid profile of severely obese patients, taking into account the dietary intake of these patients.

METHODS

This is a Cross-sectional involving 120 severely obese patients ($\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$) under evaluation for bariatric surgery according to the Brazilian guidelines.¹⁷ Consecutively, they were seen at the Bariatric Surgery and Endocrinology outpatient units of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), from March 2010 to December 2014. Patients were excluded if they had diseases that could interfere with the absorption of fatty acids such as Chron's disease, celiac disease and ulcerative colitis; were under 18 years old or illiterate (due to difficulty in making the required food record). The local ethics committees approved the protocol, and all patients signed an informed consent form. Patients followed the criteria of the *Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa* (2011) for socioeconomic assessment.¹⁸

Anthropometric Examination

All measurements were performed in accordance with the recommendations of the Brazilian Ministry of Health Food and Dietary Surveillance System.¹⁹ Weight (kg) was measured with a digital physician scale (Filizola, Brazil, resolution 0.1 kg) while barefoot and wearing lightweight clothes. Height was measured with a wall-mounted stadiometer (Sanny, Brazil), with the patient standing and the head aligned in the Frankfurt plane. Body mass index (BMI) was calculated by dividing the weight by the height squared. All circumferences were measured using non-stretch fiberglass measuring tapes (Wiso, Brazil). Mid-Upper Arm Circumference (MUAC) was measured at the midpoint between the acromion and olecranon, over the posterior aspect of the relaxed arm on the non-dominant side. Waist Circumference (WC) was measured at the midpoint between the lowest rib and the iliac crest. Hip Circumference (HC) was measured at the level of the greatest protrusion of the gluteal area. The waist-to-hip ratio (WHR) and the Body Adiposity Index (BAI) ($[\text{Hip circumference} / (\text{height} \times \sqrt{\text{height}})] - 18$) was then calculated.

Food consumption

Assessment of dietary intake included three 24-hour dietary records (R24h). Digital kitchen scales (with graduated scales from 1g) and a measuring cup (from 25 ml) were provided. Patients were instructed by a trained dietitian on the handling of the digital kitchen scales and measuring cups, and on how to record the measured food consumption over three days in appropriate forms. Later, the notes were reviewed in order to solve incomplete or incorrect data. From the records, an average of the food consumed in three days was calculated, obtaining the energy, macronutrients, micronutrients and dietary fiber usually ingested. Nutritional calculations were carried out with Nutribase 7.18 software (CyberSoft, USA).

To assess the adequacy of food records, protein intake was assessed by urinary urea.²⁰ A 24-hour urine sample was collected concurrently with the third food record. This calculation is also based on patient body weight. The value obtained by this formula esteem with some accuracy the protein intake from urinary urea (IPU) and serves as the standard criteria for assessing the adequacy of protein intake obtained by R24h [total protein (g) ÷ body weight (kg) = IPHA]. If the reason IPHA / IPU is contained between 0.7 and 1.3, the 24HR is accepted as appropriate and the patient is considered adherent. Quality control of the adequacy of the 24-hour urine collection is done by the urinary creatinine value and the collection is considered complete if the measured value is 700-1500 mg / 24 hours in women, and 1000-1800 mg / 24 hours in men.²¹ The basal metabolic rate (BMR) was calculated for overweight adult men and women according to the *Dietary Reference Intakes* (DRI's).²²

Clinical and laboratory evaluation

Confirmation of comorbidities was obtained from the medical history, current medications and medical records. The metabolic panel consisted of measurement of the following parameters: triglyceride (TG) and total cholesterol (TCHOL) levels, by enzymatic colorimetric method (Hitachi 917, Roche, Brazil); HDL cholesterol, by a homogeneous enzymatic colorimetric assay (Hitachi 917, Roche, Brazil); LDL cholesterol, estimated by the Friedewald formula 18;²³ plasma glucose, by colorimetric glucose oxidase method (Hitachi 917, Roche, Brazil); glycated hemoglobin (A1c%) by high precision liquid chromatography

(Tosoh 2.2 Plus HbA1c; Tosoh Corporation, Tokio Japão); insulin, TSH, and T4 by electrochemiluminescent immunoassay (Modular E-170, Roche, Brazil); C-reactive protein (CRP) by nephelometry (BNII Nephelometer, DSP, Brazil). Insulin Resistance was estimated by the Homeostatic Model Assessment (HOMA-IR), as: fasting glucose (mmol/l) \times fasting insulin (μ U/ml)/22.5; beta-cell function was assessed by HOMA- β : $20 \times$ fasting insulin (μ U/ml) / (fasting glucose (mmol/l) – 3.5).

Physical activity was analyzed by the International Questionnaire of Physical Activity, short version.²⁴ Quality of life was assessed by the 12-Item Short-Form Health Survey (SF-12),²⁵ and psychological evaluation through the Guide to the Structured Clinical Interview for DSM-IV Dissociative Disorders.²⁶ All instruments were previously validated for the Brazilian population and those requiring specific training were applied and interpreted by a qualified psychologist.

Genetic Evaluation

The FABP-2 polymorphism was analysed by a real time DNA amplification technique (Assay ID C_30090620_10; Applied Biosystems, Foster City, CA; TaqMan® SNP genotyping Assays, Applied Biosystems, CA, USA), in the ABI PRISM 7000 Real-Time PCR system (Applied Biosystems, CA, USA). The reactions were performed using the following amplification protocol: an initial cycle at 95 ° C for 10 minutes, followed by 40 cycles of 95 ° C for 15 seconds, and a final cycle of 60°C for 1.5 minutes. After amplification, the reading and interpretation of the genotype data were performed using the SDS 1.1 software (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS v.20 software. Continuous data were expressed as means \pm standard deviations (SD). Categorical data were expressed as number of case subjects and percent of individuals affected. χ^2 , Student's t test, or U test of Mann-Whitney were used to compare genotype groups in terms of clinical and laboratory characteristics. As the frequency of Thr54 homozygous genotype is low, we combined

Ala54Thr and Thr54Thr in a group and the wild Ala54Ala is a second group. Hardy-Weinberg equilibrium was calculated using allele frequencies and the χ^2 test. $P < 0.05$ (two sided) was considered to be significant.

The sample size (112 patients) was calculated based on an average prevalence of 50% of Ala54Thr polymorphism in morbidly obese patients¹⁵ and an expected difference of 4.5 mg/dL in C-reactive protein,²⁷ with an alpha error of 5% and a power of 80%.

RESULTS

We evaluated 120 patients. Among the patients studied, 44.2% (53 patients) had the mutant genotype (35% Thr54Thr and 9.2% Ala54Thr) and 55.8% (67 patients) had the Ala54Ala genotype (wild group). The frequency of the T allele (risk allele) was 0.26, and the genotypes were in Hardy-Weinberg equilibrium ($p = 0.75$). The subjects were predominantly female (79.2%). The frequency of females was the same in the two groups ($p = 0.664$). Age was also similar, with a mean of 44.99 ± 11.56 (SD) years, as well as all other socio-demographic characteristics (*Table 1*).

In the whole sample, 46.6% ($n = 55$) of subjects had binge eating disorder. Regarding to binge eating disorder 45.5% ($n=25$) of mutant allele carriers, and 54.5% ($n=30$) of wild type, had this disorder ($p = 0.530$) (data not shown). Furthermore, 30.6% of patients had current depression and 65.7% had past depression (no significant difference between groups). The overall score of the quality of life was 31.3 ± 2.9 (the relative score to physical health was 11.6 ± 1.9 and the relative score to mental health was 19.7 ± 2.5). Lower values of SF-12 mean worse physical and mental health. As to the use of medications, 22.5% of patients were using statins, and 0.8% fibrates, and no difference was found between the two groups ($p = 0.636$) (*Table 1*).

Analyzing adequacy of food intake reports from the protein consumption and urinary urea excretion, we observed that only 37.4% (43 patients) gave an accurate record; another 37.4% (43) sub-reported the consumption, and 25.2% (29) super-reported. In *Table 2* we can see important differences between adherent and non-adherent groups, both in relation to social characteristics, such as anthropometric and food intake.

Among adherent patients (n = 43), the body weight, BMI, BMR and HC were greater in patients with Thr54 mutant allele (118.8 ± 18.2 vs. 132.3 ± 21.6 , $p = 0.021$; 43.6 ± 5.7 vs. 48.1 ± 7.2 , $p = 0.029$; 2074.0 ± 233.9 vs 2226.3 ± 253.2 , $p = 0.022$; 129.2 ± 10.2 vs. 140.2 ± 16.1 , $p=0.018$, respectively) (**Table 3**). **Table 4** shows the average of the data obtained from the 24-hour dietary record (n = 43). No significant difference was found between the wild and mutant groups.

In relation to the biochemical parameters (n=43), there was a significant difference in Homa.Beta [194 (58.2-361.2) in wild type vs. 286.0 (35.7-736.2) in Thr54, $p = 0.041$] (**Table 5**). Aerobic exercise was similar in both groups ($p = 0.845$).

DISCUSSION

In patients who complied with the R24h, higher body weight, BMI, HC and BMR were found in Thr allele carriers when compared to the wild group. Further, Homa.Beta was also found to be higher in these patients. However, in the whole sample (n=120), there was no association of the Thr54 allele of FABP-2 gene with this same variable.

This mutation is common, with a Thr54 allelic frequency of 30% in most populations. In our study, the Ala54Thr frequency was 32.6%, and 7.9% to the homozygous Thr (frequency of the T allele was 0.26), similar to that found in a previous study with severely obese individuals (43.7% Ala54Thr and 3.6% Thr54Thr - 0.25 T allele frequency)²⁷, and similar to a study of 493 Brazilian with Diabetes Mellitus Type 2 (T2DM), that found a frequency of the risk allele of 25%.²⁸

There was a significant difference between patients who adhered or not to the R24h. Those who had not complied to the food recall had fewer years of schooling, which could explain the nonadherence. One hypothesis is that these patients have inherent difficulties in the correct identification of food, and also in the recording of data: the quantification of recipes and culinary dishes, any weighing that is incorrectly annotated, or simply not done can change the result, interfering in the adherence.²⁹

Those who didn't comply also showed higher BMI and BAI, and lower consumption of saturated lipids. Studies show that obese people tend to underestimate their dietary intake;

therefore, the importance of confirming the adherence to the diet through a urinary marker. This had not been done in other studies.^{30,31} Although there is the possibility of failure in recording and behavior change during the recording,³² the R24h is a reliable tool for collecting information about the current intake of an individual. All foods are weighed and recorded before being consumed and, similarly, the scraps are weighed and recorded as well as use all details (salt, sugar, oil and sauces, and even the rind of the food that was ingested), increasing the reliability of the results. So, despite some limitations, it is the most reliable method for analyzing the food consumption.

The study sample size may have been a limiting factor to the results. We were actually forced to group the subjects according to the presence or absence of the mutant allele (mutant versus wild type) and not according to the genotypes, since only 11 patients had the homozygote mutant allele.

Even so, we found significant differences in anthropometric parameters. The Ala54Thr polymorphism has been associated with BMI,⁵⁻⁷ but the results are controversial.^{8,33-35} A meta-analysis with 569 obese subjects and 446 controls showed that the risk allele was significantly associated with obesity (OR = 1.15; CI = 1.02-1.30, p=0.02) and there was a significant difference in the allele and genotype frequencies between cases and controls (p = 0.002).³⁶ On the other hand, a meta-analysis of 27 studies (10 974 individuals) did not find evidences that Ala54Thr polymorphism has a significant association with BMI.³³ It is supposed that sex, age and race may contribute to differences in association studies between Ala54Thr polymorphism and obesity.³⁷ In the current study, Thr54 mutant allele carriers had higher BMI, body weight, HC and BMR than Ala54 homozygous allele carriers.

Our study also found higher Homa.Beta values in the mutant group, indicating worse functional capacity of the pancreatic beta cells.³⁸ Although the HOMA model may not be the most accurate method it is a useful tool for population studies due to ease of application and strong correlation with the direct techniques for assessing the functional capacity of pancreatic beta cells. There are no other studies supporting this difference between the wild and mutant groups, although some have shown an association of Ala54Thr polymorphism and T2DM. A meta-analysis of 13 studies (2020 T2DM cases and 2910 controls) found an increased probability of T2DM in mutant allele carriers (1.18, 95% CI = 1.04-1.34, p=0.062). After an analysis stratified by ethnicity, the probability remained significantly higher among

Asians, but not in Caucasians.³⁹ Another recent meta-analysis, with 7095 individuals in 11 case-control studies, found similar results when comparing the wild and mutant group (1.14, 95% CI = 1.03-1.27, $p = 0.01$) and, after a stratified analysis by region, the risk was also higher in Asians (OR = 1.20, 95% CI = 1.05-1.38, $p = 0.009$).⁴⁰

In summary, adherence to the R24h showed to be crucial to the interpretation of genetic data, because there are important differences between adherent and nonadherent patients. Our study also found higher body weight, BMI, HC, BMR and Homa.Beta in candidates for bariatric surgery carrying the allele of FABP-2 gene. The implications of this finding for the results of the surgery and weight maintenance have yet to be understood. This finding requires confirmation in larger populational samples.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was partially supported by Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE-HCPA) and KOPS, NL was recipient of scholarship from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflict of interest to disclose.

REFERENCES

- 1 WHO. World Health Organization. Obesity and overweight. 2015.
- 2 Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. (2006) The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity*,14(4):529-644.
- 3 Loos, RJ (2012). Genetic determinants of common obesity and their value in prediction. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 26(2):211-26.
- 4 Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni PA, et al. (1995) An amino acid substitution in the human intestinal Fatty Acid Binding Protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation, and insulin resistance. *J. Clin. Invest* 95:1281-1287.
- 5 Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Sadikian S, Connelly PW, Zinman B, et al. (1996) Genetic variation of Intestinal Fatty Acid Binding Protein associated with variation in body mass in aboriginal Canadians. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 4334-4337.
- 6 Nakanishi S, Yamane K, Kamei N, Okubo M, Kohno N. (2004) The effect of polymorphism in the intestinal Fatty Acid Binding Protein 2 gene on fat metabolism is associated with gender and obesity amongst non-diabetic Japanese-Americans. *J Diabetes Obes Metab* 6(1):45-9.
- 7 Tavidou A, Arvanitidis KI, Tiptiri-Kourpeti A, Petridis I, Ragia G, Kyroglou S, et al (2009) Thr54 allele of Fatty Acid Binding Protein 2 gene is associated with obesity but not type 2 diabetes mellitus in a Caucasian population. *Diabetes Res Clin Pract* 84(2):132-7.
- 8 Vimalaswaran KS, Radha V, Mohan V (2006) Thr54 allele carriers of the Ala54Thr variant of FABP2 gene have associations with metabolic syndrome and hypertriglyceridemia in urban South Indians. *Metabolism* 55(9):1222-6.
- 9 Ockner RK, Manning JA, Poppenhausen RB, Ho WKL (1972) A Binding Protein for Fatty Acids in cytosol of intestinal mucosa, liver, and other tissues. *Science* 177(4043):56-8.
- 10 Storch J, Thumser AE (2010) Tissue-specific functions in the Fatty Acid Binding Protein family. *J Biol Chem* 285(43):32679-83.
- 11 Galluzzi JR, Cupples LA, Otvos JD, Wilson PW, Schaefer EJ, Ordovas JM (2001) Association of the A/T54 polymorphism in the intestinal Fatty Acid Binding Protein with variations in plasma lipids in the Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis* 159(2):417-24.
- 12 de Luis DA, Sagrado MG, Izaola O, Terroba MC, Cuellar L, Conde R, et al (2008) Influence of Ala54Thr polymorphism of fatty acid-binding protein-2 on clinical results of biliopancreatic diversion. *Nutrition* 24(4):300-4.
- 13 Carlsson M, Orho-Melander M, Hedenbro J, Almgren P, Groop LC (2000) The T 54 allele of the intestinal Fatty Acid-Binding Protein 2 is associated with a parental history of stroke. *J Clin Endocrinol Metab* 85(8):2801-4.

- 14 Lefevre M, Lovejoy JC, Smith SR, Delany JP, Champagne C, Most MM, et al (2005) Comparison of the acute response to meals enriched with cis- or trans-fatty acids on glucose and lipids in overweight individuals with differing FABP2 genotypes. *Metabolism* 54(12):1652-8.
- 15 Marín C, Pérez-Jiménez F, Gómez P, Delgado J, Paniagua JA, Lozano A, et al (2005) The ala54 polymorphism of the Fatty Acid-Binding Protein 2 gene is associated with a change in insulin sensitivity after a change in the type of dietary fat. *Am J Clin Nutr.* 82(1):196-200.
- 16 Martinez-Lopez E, Garcia-Garcia MR, Gonzalez-Avalos JM, Maldonado-Gonzalez M, Ruiz-Madrigal B, Vizmanos B, et al (2012) Effect of Ala54Thr polymorphism of FABP2 on anthropometric and biochemical variables in response to a moderate-fat diet. *Nutrition* 29(1):46-51.
- 17 Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica (2006) Consenso Brasileiro Multissocietário em cirurgia da obesidade.
- 18 ABEP - Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa – 2011 – www.abep.org – abep@abep.org. Dados com base no Levantamento Sócio Econômico 2009 - IBOPE
- 19 Ministério da Saúde. Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - Sisvan: Orientações básicas para a coleta, processamento, análise de dados e informação em serviços de saúde. Brasília.
- 20 Moulin CC, Tiskievicz F, Zelmanovitz, Oliveira J, Azevedo MJ, Gross JL. Use of weighed diet records in the evaluation of diets with different protein contents in patients with type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr* 67: 853-7, 1998.
- 21 MARONI B.J.; STEINMAN T.L.; MITCH W.E. A method for estimating nitrogen intake of patients with chronic renal failure. *Kidney Int.* 1985; 27: 58-65.
- 22 Institute of Medicine (IOM) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes (2002-2005) Dietary Reference Intakes (DRI) For Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids. www.nap.edu.
- 23 Friedewald WT, Levi RI, Fredrickson DS (1972). Estimation of the concentration of low density lipoproteins cholesterol in plasma without use of the ultracentrifuge. *Clin. Chem* 18:499-502.
- 24 Pardini R, Matsudo SM, Araújo T, Matsudo V, Andrade E, Braggion G, et al (2001) Validação do questionário internacional de nível de atividade física (IPAQ - versão 6): estudo piloto em adultos jovens brasileiros. *Rev. Bras. Ciên. Mov.* 9 (3): 45-51.
- 25 Camelier A. Avaliação da qualidade de vida relacionada à saúde em pacientes com DPOC: estudo de base populacional com o SF-12 na cidade de São Paulo-SP. [thesis]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, 2004.
- 26 Steinberg M: Interviewers Guide to the Structured Clinical Interview for DSM-IV Dissociative Disorders (SCID-D). Washington, DC, American Psychiatric Press, 1994.

- 27 de Luis DA, Sagrado MG, Aller R, Izaola O, Conde R, Romero E (2009) Ala54Thr polymorphism of fatty acid binding protein 2, role on insulin resistance and cardiovascular risk factors in presurgical morbid obesity patients. *Obes Surg.* 19(12):1691-6.
- 28 Canani LH, Capp C, Ng DP, Choo SG, Maia AL, Nabinger GB, et al (2005) The Fatty Acid-Binding Protein-2 A54T polymorphism is associated with renal disease in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 54(11):3326-30.
- 29 Fisberg, RM; Marchioni, DML; Colucci ACA. Assessment of food consumption and nutrient intake in clinical practice. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2009;53/5.
- 30 Pryer JA, Vrijheid M, Nichols R, Kiggins M, Elliott P. Who are the 'low energy reporters' in the dietary and nutritional survey of British adults? *Int J Epidemiol.* 1997;26(1):146-54. 48.
- 31 Slattery ML, Edwards SL, Caan B. Low-energy reporters: evaluation of potential differential reporting incase-control studies. *Nutr Cancer.* 2002;42(2):173-9.
- 32 Rutishauser IH. Dietary intake measurements. *Public Health Nutr.* 2005;8(7A):1100-7.
- 33 Zhao T, Zhao J, Lv J, Nzekebaloudou M (2010) Meta-analysis on the effect of the Ala54Thr polymorphism of the Fatty Acid-Binding Protein 2 gene on body mass index. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 21(10):823-9.
- 34 Yamada K, Yuan X, Ishiyama S, Koyama K, Ichikawa F, Koyanagi A, et al (1997) Association between Ala54Thr substitution of the Fatty Acid-Binding Protein 2 gene with insulin resistance and intra-abdominal fat thickness in Japanese men. *Diabetologia* 40(6):706-10.
- 35 Sipiläinen R, Uusitupa M, Heikkinen S, Rissanen A, Laakso M (1997) Variants in the human intestinal Fatty Acid-Binding Protein 2 gene in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 82(8):2629-32.
- 36 Shabana, Hasnain S. The Fatty Acid-Binding Protein 2 (FABP2) polymorphism Ala54Thr and obesity in Pakistan: A population based study and a systematic meta-analysis. *Gene.* 2015 Dec 10;574(1):106-11.
- 37 Takakura Y, Yoshioka K, Umekawa T, Kogure A, Toda H, Yoshikawa T, et al (2005) Thr54 allele of the FABP2 gene affects resting metabolic rate and visceral obesity. *Diabetes Res Clin Pract* 67(1):36-42.
- 38 Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2014-2015/Sociedade Brasileira de Diabetes; [organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio]. – São Paulo: AC Farmacêutica, 2015.
- 39 Qiu CJ, Ye XZ, Yu XJ, Peng XR, Li TH. Association between FABP2 Ala54Thr polymorphisms and type 2 diabetes mellitus risk: a HuGE Review and Meta-Analysis. *J Cell Mol Med.* 2014 Dec; 18(12): 2530–2535.
- 40 Liu P, Yu D, Jin X, Li C, Zhu F, Zheng Z, et al. The association between the FABP2 Ala54Thr variant and the risk of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis based on 11 case-control studies. *Int J Clin Exp Med.* 2015 Apr 15;8(4):5422-9.

TABLES

Table 1. Sociodemographic and clinical characteristics of the sample.

	Overall (n=120)	Ala54/Ala54 (n=67)	Ala54/Thr54 e Thr54/Thr54 (n=53)	P^a
Age (years)	44.9 ± 11.5	45.5 ± 11.0	44.2 ± 12.3	0.534 ³
Female	79.2% (95)	80.6% (54)	77.4% (41)	0.664 ¹
Race				
White	70.8% (85)	68.7% (46)	73.6% (39)	0.632 ²
Black	10.8% (13)	10.4% (7)	11.3% (6)	
Mulatto	9.2% (11)	9.0 (6)	9.4% (5)	
Others	9.2% (11)	12.0 (8)	5.8% (3)	
Economic Classification				
A	0.8%	1.5% (1)	0.0% (0)	0.490 ²
B1 e B2	6.8%	49.3% (32)	49.0% (26)	
C1 e C2	42.4%	43.1% (28)	47.1% (25)	
D	5.1%	6.2% (4)	3.8% (2)	
Education				
Elementary School	46.3% (55)	46.9% (31)	45.3% (24)	0.490 ²
High school	31.9% (38)	33.3% (22)	30.2% (16)	
Complete and incomplete graduation	21.8% (26)	19.7% (13)	24.6% (13)	
Smoking				
Smoker	3.3% (4)	3.0% (2)	3.8% (2)	0.645 ²
Former smoker	35.8% (43)	32.8% (22)	39.6% (21)	
Never smoked	60.85 (73)	64.2% (43)	56.6% (30)	
Physical activity				
Active	41.4% (48)	42.2% (27)	40.4% (21)	0.845 ²
Sedentary	58.6% (68)	57.8% (37)	59.6% (31)	
Quality of life				
Total	31.3 ± 2.9	31.1 ± 2.7	31.6 ± 3.1	0.359 ³
Physical Health	11.6 ± 1.9	11.5 ± 1.8	11.7 ± 1.9	0.412 ³
Mental health	19.7 ± 2.5	19.6 ± 2.5	19.9 ± 2.6	0.583 ³
Binge Eating Disorder				
Negative	52.1% (62)	53.0% (35)	50.9% (27)	0.926 ¹
Moderate	26.9% (32)	27.3% (18)	26.4% (14)	
Serious	21.0% (25)	19.7% (13)	22.6% (12)	
Hypertension	71.7% (86)	77.6% (52)	64.2% (34)	0.104 ¹
OSAHS	44.1% (45)	47.3% (26)	40.4% (19)	0.768 ¹
Diabetes Mellitus Type 2	34.2% (41)	34.3% (23)	34.0% (18)	0.967 ¹
Dyslipidemia	24.2% (29)	26.9 (18)	20.8% (11)	0.437 ¹
Statin use				
Yes	22.5% (27)	20.9% (14)	24.5% (13)	0.636 ¹
No	77.5% (93)	79.1% (53)	75.5% (40)	

OSAHS: Obstructive Sleep Apnea / Hypopnea Syndrome. Data described as percentages and absolute numbers. Chi-square Test¹. Fisher's exact test². T test for independent samples³. α differences between groups with and without the Thr54 allele.

Table 2. Differences between patients who complied or not to the 24-hour food records.

	Adherents (n=43)	Nonadherents (n=77)	P ^a
Sociodemographic characteristics			
Female	74.4%	81.8%	0.339 ³
Years of schooling	10.32 (4-19)	8.1 (0-19)	0.009 ^{2*}
Anthropometric profile			
Weight (kg)	125.4 ± 20.8	128.7 ± 27.3	0.490 ¹
BMI (kg/m ²)	45.8 ± 6.8	49.1 ± 8.1	0.024 ^{1*}
BAI	45.8 ± 8.8	50.7 ± 9.1	0.006 ^{1*}
WC (cm)	132.9 ± 15.2	136.5 ± 16.7	0.248 ¹
HC (cm)	134.7 ± 14.4	140.2 ± 16.1	0.052 ²
Food consumption			
Kcal (total)	2684.6 ± 829.4	2646.5 ± 1137.8	0.395 ²
% LIP	31.8 ± 6.0	29.1 ± 6.7	0.032 ^{2*}
LIP, SAT(g/day)	0.2 (9.2-69.3)	0.1 (7.9-71.6)	0.010 ^{2*}
% SAT	9.5 ± 2.4	8.2 ± 2.2	0.004 ^{2*}
ω6/ω3 (g/day)	8.0 (3.7-12.5)	11.2 (1.5-27.5)	0.119 ²
Fiber (g/day)	25.9 ± 11.0	27.0 ± 14.1	0.989 ²

BMI: Body Mass Index; BAI: Body Adiposity Index; WC: Waist circumference. HC: Hip circumference; Kcal: total calorie intake; LIP: lipids; LIP, SAT: saturated fat. Data described as mean ± standard deviation. T test for independent samples¹. U test of Mann-Whitney². Chi-Square test³. α=0,05

Table 3. Anthropometric characteristics of patients who joined the 24-hour dietary records, according to the polymorphism at codon 54 of the FABP-2 gene.

	Overall (n=43)	Ala54/Ala54 (n=21)	Ala54/Thr54 Thr54/Thr54 (n=22)	P^a
BMI (kg/m²)	45.8 ± 6.8	43.6 ± 5.7	48.1 ± 7.2	0.0292 [*]
BAI	45.8 ± 8.8	43.5 ± 7.3	48.0 ± 9.7	0.102 ¹
Weight (kg)	125.4 ± 20.8	118.8 ± 18.2	132.3 ± 21.6	0.0212 [*]
MUAC (cm)	41.3 ± 5.7	40.2 ± 5.2	42.4 ± 6.1	0.235 ¹
WC (cm)	132.9 ± 15.2	129.1 ± 13.2	136.7 ± 16.4	0.112 ¹
HC (cm)	134.7 ± 14.4	129.2 ± 10.2	140.2 ± 16.1	0.0182 [*]
WHR	0.9 ± 0.0	1.0 ± 0.0	0.9 ± 0.1	0.443 ²
BMR (Kcal/day)	2149.3 ± 252.9	2074.0 ± 233.9	2226.3 ± 253.2	0.0222 [*]

BMI: Body Mass Index; BAI: Body Adiposity Index; MUAC: mid-upper arm circumference; WC: Waist circumference; HC: Hip circumference; WHR: Waist-to-Hip Ratio; BMR: Basal Metabolic Rate. Data described as mean ± standard deviation. T test for independent samples ¹. U test of Mann-Whitney². $\alpha=0,05$

Table 4. 24-hour dietary records average analysis according to the polymorphism at codon 54 of FABP-2 gene.

	Overall (n=43)	Ala54/Ala54 (n=21)	Ala54/Thr54 Thr54/Thr54 (n=22)	P^a
Total calorie intake	2684.6 ± 829.4	2577.5 ± 788.3	2796.8 ± 875.3	0.393 ¹
Protein (g/day)	118.5 ± 37.5	121.3 ± 40.1	115.5 ± 35.3	0.615 ¹
Protein (g/kg/day)	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.3	0.8 ± 0.2	0.090 ¹
% Protein	18.2 ± 4.3	19.3 ± 4.6	17.1 ± 3.94	0.108 ¹
Carbohydrate (g/day)	343.4 ± 148.4	314.9 ± 123.9	373.1 ± 168.3	0.202 ¹
% Carbohydrate	50.3 ± 9.6	48.3 ± 7.4	52.3 ± 11.3	0.369 ²
Lipids (g/day)	93.9 ± 30.4	93.1 ± 29.1	94.8 ± 32.3	0.862 ¹
% Lipids	31.8 ± 6.0	31.0 ± 7.0	32.6 ± 5.0	0.406 ¹
Saturated fat (g/day)	28.4 ± 11.5	28.3 ± 10.0	28.5 ± 13.2	0.752 ²
% Saturated	9.5 ± 2.4	9.8 ± 2.0	9.1 ± 2.8	0.316 ¹
Unsaturated fat (g/day)	55.3 ± 20.4	53.4 ± 18.1	57.4 ± 23.0	0.647 ¹
Monounsaturated fat (g/day)	33.7 (10.7-128.2)	36.6 (10.7-128.2)	31.2 (13.2-59.4)	0.450 ¹
Polyunsaturated fat (g/day)	23.9 ± 9.5	22.0 ± 7.7	25.9 ± 10.9	0.297 ²
Omega-3 fatty acids	2.4 ± 1.0	2.3 ± 0.8	2.5 ± 1.1	0.434
Omega-6 fatty acids	19.3 ± 8.2	17.8 ± 6.1	20.9 ± 9.9	0.229
ω6/ω3 (g/ day)	8.0 ± 1.5	8.0 ± 1.8	8.1 ± 1.2	0.790
Fiber (g/ day)	25.9 ± 11.0	23.8 ± 10.2	28.0 ± 11.7	0.219 ¹
Cholesterol (mg/ day)	315.0 (111.9-1096.1)	319.0 (133.7-741.5)	310.0 (111.9-1096.1)	0.451 ¹
Calcium (mg/ day)	987.0 (326.7-4270.5)	901.5 (326.7-1803.4)	1076.5 (377.5-4270.5)	0.398 ¹
Iron (mg/day)	17.1 ± 6.9	16.5 ± 8.2	17.8 ± 5.3	0.224 ²
Zinc (mg/day)	16.6 ± 6.3	16.8 ± 7.3	16.5 ± 5.2	0.878 ²

T test for independent samples¹. U test of Mann-Whitney². α=0,05

Table 5. Biochemical parameters of patients according to the polymorphism at codon 54 of the FABP-2 gene.

	Overall (n=43)	Ala54/Ala54 (n=21)	Ala54/Thr54 Thr54/Thr54 (n=22)	P^a
TCHOL (mg/dL)	181.8 ± 35.3	183.7 ± 39.2	179.9 ± 31.5	0.724 ¹
HDLc (mg/dL)	40.8 ± 8.9	40.7 ± 9.7	40.9 ± 8.1	0.567 ²
LDLc (mg/dL)	106.4 ± 30.5	105.5 ± 35.9	107.4 ± 24.5	0.840 ¹
TG (mg/dL)	173.0 (58.0-742.0)	187.4 (62.0-742.0)	157.8 (58.0-404.0)	0.444 ²
CRP (mg/L)	126 (4.0-63.0)	11.6 (4.0-63.0)	13.7 (4.0-52.0)	0.146 ²
GLUcose (mg/dL)	120.2 ± 45.5	122.8 ± 36.4	117.5 ± 54.3	0.202 ²
TCalcium (mg/dL)	8.9 ± 0.4	9.0 ± 0.4	8.8 ± 0.4	0.202 ¹
Creatinine (mg/dL)	0.7 ± 0.2	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.824 ²
A1c%	6.5 ± 1.6	6.4 ± 1.1	6.7 ± 2.0	0.961 ²
HOMA.IR	9.0 (2.1-31.9)	9.3 (2.9-31.9)	8.8 (2.1-21.8)	0.930 ²
HOMA.BETA	240.0 (35.7-736.2)	194.0 (58.2-361.2)	286.0 (35.7-736.2)	0.041 ^{1*}
Insulin (uU/ml)	29.1 ± 13.2	28.6 ± 13.1	29.7 ± 13.6	0.794 ¹

TCHOL: total cholesterol; HDLc: high-density lipoprotein cholesterol; LDLc: low-density lipoprotein cholesterol; TG: triglycerides; CRP: C-reactive protein; TCalcium: Calcium total serum. A1C%: glycated hemoglobin. HOMA.IR: Homeostatic Model Assessment Insulin Resistance. HOMA-β: Homeostatic Model Assessment-β. Data described as mean ± standard deviation; median (interquartile range). T test for independent samples¹. U test of Mann-Whitney². α=0,05

APÊNDICES

APÊNDICE 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título: Associação do Polimorfismo Ala54Thr do gene FABP-2 e de padrões de consumo alimentar ao perfil lipídico e proteína C reativa em pacientes obesos graves candidatos à cirurgia bariátrica

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa científica. A pesquisa tem por objetivo avaliar se há uma associação de alterações genéticas ao perfil lipídico e inflamatório em pacientes com obesidade grave. Além disso, pretende avaliar o consumo alimentar usual dos pacientes, através do preenchimento de questionários sobre sua alimentação e pesagem de alimentos consumidos em casa.

Você será acompanhado no Serviço de Endocrinologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em data previamente marcada. Serão preenchidos questionários sobre qualidade alimentar, classificação sócio-econômico e atividade física. Também serão coletados os dados antropométricos, como peso, altura, circunferência do braço, da cintura e do quadril. Você também receberá instrução para o preenchimento do recordatório alimentar de 3 dias e coleta de urina de 24h; qualquer dúvida que surgir será esclarecida. Em uma próxima consulta, coletará uma amostra de urina de 24 horas e uma amostra de 10ml de sangue. Os procedimentos descritos acima não implicam risco para a vida ou a integridade física dos participantes. Exigem apenas a dedicação para a pesagem e preenchimento dos registros alimentares e para a coleta de urina. O único desconforto previsto é o da picada da agulha para retirada do sangue, que poderá deixar mancha roxa e/ou leve dolorimento (passageiro) no local. O sangue coletado será usado para realizar os exames laboratoriais e para analisar possíveis alterações (polimorfismos) nos genes (DNA). Além disso, uma amostra de sangue será armazenada para realizar possíveis análises futuras relacionadas a outros polimorfismos associados com a obesidade, alterações metabólicas ou a fatores alimentares. No entanto, qualquer nova pesquisa com o material armazenado será aprovada pelo Comitê de Ética deste hospital.

Não haverá benefícios pessoais com os resultados, no entanto, poderemos entender melhor a etiologia da obesidade, que tem se mostrado tão importante em nosso meio. Além disso, espera-se que este estudo sirva como suporte científico para maiores investigações na área.

Você poderá desistir da pesquisa a qualquer momento, mesmo após ter começado, e isso não vai lhe trazer prejuízo à continuidade do tratamento prestado pela equipe de saúde desse hospital. Para participar da pesquisa não será necessário receber nenhum tipo de medicação e não haverá despesas pessoais, incluindo exames e consultas. Os resultados obtidos com este estudo serão usados para publicações, e lhe garantimos, que estes dados serão utilizados sem a identificação, preservando e mantendo o seu anonimato. Alertamos que não são conhecidos riscos envolvidos neste estudo.

Este documento foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa desta instituição. Uma via deste documento deve ficar com você.

Contato dos pesquisadores responsáveis por este projeto de pesquisa:

Prof. Dr^o Rogério Friedman: (51) 33598127

Nutricionista Jaqueline Horvath: (51) 94159474

Acadêmica de nutrição Natália Luiza Kops: (51) 98580844

Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Serviço de Endocrinologia.

Rua Ramiro Barcelos 2350, prédio 12, 4º andar Bom Fim

90035-903 - Porto Alegre, RS – Brasil. Telefone: (51) 33598127

Contato do Comitê de Ética em Pesquisa: Localizada no 2º andar do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sala 2227. Fone/Fax: 51 3359-7640.

A minha assinatura, neste termo de consentimento informado, dará autorização aos pesquisadores envolvidos para utilizar os dados obtidos quando de fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando a minha identificação. Se o (a) Sr. (a) concordar em participar deste estudo assine abaixo:

Porto Alegre, _____ de _____ de _____.

APÊNDICE 2

FICHA DE 1ª CONSULTA

Data preenchimento ficha: ___/___/_____

Nome: _____ RG: _____

END: _____ CEP: _____

Fone(s): _____ DN: ___/___/_____ Idade: _____ Sexo: () F () M

Escolaridade: _____ Escolaridade (anos): _____

Atualmente você está trabalhando? () Sim () Não * Se SIM, qual é o seu trabalho? _____

Quais são as suas atividades diárias? _____

Dentre as opções qual você enquadra: () Branco () Preto () Mulato () Oriental () Índio () Outros

Classificação Econômica: () A1 () A2 () B1 () B2 () C () D () E

Tabagismo: () Nunca fumou () Sou fumante há _____ anos, e fumo em média _____ cigarros por dia.

() Sou ex-fumante. Parei de fumar há ___ meses/anos, fumei por _____ anos, em média ___ cigarros/dia.

Acompanhamento clínico: _____

Contato médico assistente? _____

Diagnósticos Prévios: _____

Medicação em uso: _____

História de medicações anorexígenas: () Sim () Não Qual: _____

História de dietas prévias: () Sim () Não Orientadas? _____

AVALIAÇÕES ANTROPOMÉTRICAS E CLÍNICA

Peso (kg) = _____ Altura (cm) = _____ IMC (kg/m²) = _____ Circ. Braço (cm) = _____

Cintura (cm) = _____ Quadril (cm) = _____

Pressão Arterial (mmHg): ___/___ - ___/___ - ___/___ FC (bpm) = _____

Pressão Arterial-Média (mmHg): ___/_____