



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

CLARISSA GUEDES NORONHA

**UTILIZAÇÃO DE MODELO METABONÔMICO PARA AVALIAÇÃO DA
REGRESSÃO DO DIABETES MELLITUS TIPO II APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA**

Recife
2019

CLARISSA GUEDES NORONHA

**UTILIZAÇÃO DE MODELO METABONÔMICO PARA AVALIAÇÃO DA
REGRESSÃO DO DIABETES MELLITUS TIPO II APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Cirurgia.

Área de concentração: Cirurgia Clínica e Experimental.

Orientador: Prof. Dr. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Oliveira da Silva

Catálogo na fonte:
Elaine Freitas- CRB4:1790

N852u	Noronha, Clarissa Guedes Utilização de modelo metabonômico para avaliação da regressão do diabetes mellitus tipo II após cirurgia bariátrica / Clarissa Guedes Noronha . – 2022. 71 f. ; il. Orientador: Álvaro Antônio Bandeira Ferraz. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Médicas. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia. Recife, 2022. Inclui referências, apêndices e anexo. 1. Obesidade. 2. Cirurgia bariátrica. 3. Reganho de peso. 4. Derivação Gástrica. 5. Diabetes mellitus. 6. Síndrome metabólica. I. Ferraz, Álvaro Antônio Bandeira (orientador). II. Título. 617.91 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2022 -248)
-------	--

CLARISSA GUEDES NORONHA

**UTILIZAÇÃO DE MODELO METABONÔMICO PARA AVALIAÇÃO DA
REGRESSÃO DO DIABETES MELLITUS TIPO II APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Cirurgia.

Área de concentração: Cirurgia Clínica e Experimental.

Dissertação aprovada em: 31/07 /2019

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz – UFPE (Orientador Interno)

Prof. Dr. Flávio Kreimer – UFPE (Membro Interno)

Profa. Dra. Luciana Teixeira de Siqueira – UFPE (Membro Externo)

*À Deus e À Nossa Senhora,
À Guilhermino, Lara e Luísa,
Aos meus pais e avós,
A minha irmã,
Aos meus sobrinhos,
Aos meus amigos,
Aos meus pacientes,
Pela presença visível
e invisível, incentivo, força e coragem.*

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Álvaro Antônio Bandeira Ferraz, orientador e grande incentivador do meu crescimento acadêmico; modelo de dedicação à profissão, aos pacientes e à formação de novos cirurgiões. Minha admiração, respeito e gratidão.

Ao Professor Ricardo Oliveira da Silva, meu coorientador, pela paciência e capacidade indubitável de integrar a química analítica à prática médica. Agradeço pela prestatividade e disponibilidade em orientar a produção de um trabalho em uma área tão desconhecida e árdua.

Aos meus amigos e colegas de trabalho, que compreenderam as ausências e sempre me estimularam a seguir em frente. Agradeço especialmente a minha família, por não me deixarem desistir nos momentos difíceis; e ao meu pai e mãe, por serem um exemplo de resiliência.

Ao acadêmico Luca Terracini Dompieri e ao residente de cirurgia geral Marcelo César, pela dedicação, entusiasmo e extrema eficiência na construção desse trabalho. Exemplos de estudante de medicina e residente éticos, prestativos e humanos no contato com os pacientes.

À Juliana, pós-graduanda em química, pelo empenho na construção deste projeto.

Ao laboratório de análises clínicas do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco e a toda a sua equipe de funcionários, que colaboraram no processamento do material coletado.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para esta pesquisa.

RESUMO

Introdução: Atualmente, a cirurgia bariátrica é considerada o tratamento mais eficaz para perda de peso em pacientes com obesidade severa. Contudo, é desafiador o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na perda de peso e nos benefícios metabólicos, especialmente a remissão do diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Estudos têm mostrado que até 30% dos pacientes submetidos a cirurgia bariátrica/metabólica apresentarão recorrência da DM2, além dos 45% que apresentarão reganho de peso. Neste estudo, avaliamos as diferenças entre os perfis metabonômicos no plasma de pacientes que apresentarão remissão de DM2 e aqueles que não apresentaram remissão após cirurgia bariátrica/metabólica, buscando encontrar um fator preditivo para o sucesso desta cirurgia. **Objetivo:** Analisar a utilização de modelo metabonômico para avaliação da remissão do DM2 após cirurgia bariátrica/metabólica. **Métodos:** Participaram do estudo 33 pacientes obesos diabéticos tipo 2, dos quais 22 tiveram remissão completa da DM2 e 11 tiveram recidiva da DM2 ou não apresentaram remissão da doença no pós-operatório. Amostras de sangue foram coletadas para avaliação dos perfis metabonômicos séricos através de um estudo metabonômico baseado em RMN de ^1H . **Resultados:** O modelo metabonômico para avaliação da recidiva da diabetes apresentou uma acurácia de 93,9%, sensibilidade de 81,8%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 100% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 91,7%. **Conclusão:** O modelo metabonômico para avaliação de remissão ou recidiva de diabetes após cirurgia bariátrica mostrou-se uma ferramenta eficaz e promissora para determinar o prognóstico desses pacientes.

Palavras-chave: obesidade; cirurgia bariátrica; reganho de peso; diabetes mellitus; *bypass* gástrico; *sleeve* gástrico; síndrome metabólica.

ABSTRACT

Introduction: Currently, bariatric surgery is the most effective treatment for weight loss in severely obese patients. However, it is challenging to elucidate the molecular mechanisms involved in this weight loss and also in the metabolic improvements, especially type 2 diabetes (T2D) remission. Studies show that up to 30% of those patients who have undergone bariatric/metabolic surgery will experience T2D recurrence, besides those 45% that will experience weight regain. In the current study we evaluated the differences between the metabonomic profile in the serum of patients who have experienced T2D remission and those who did not after bariatric/metabolic surgery, aiming to find a predictive factor for the success of this surgery. **Purpose:** To analyze a metabonomic model to evaluate T2D remission after bariatric/metabolic surgery. **Methods:** Thirty-three patients with obesity and T2D were submitted to bariatric/metabolic surgery, among which, 22 experienced complete remission of T2D, and 11 did not experience remission in the postoperative period. Blood samples were taken in order to assess the serum profiles through a ^1H NMR-based metabonomic study. **Results:** The metabonomic model for the assessment of T2D recurrence presented an accuracy of 93.9%, sensibility of 81.8%, specificity of 100%, positive predictive value of 100% and a negative predictive value of 91.7%. **Conclusion:** The metabonomic model to assess remission or recurrence of T2D after bariatric surgery has shown to be an effective and promising tool to establish the prognosis of these patients.

Keywords: obesity; bariatric surgery; weight regain; diabetes mellitus; gastric *bypass*; *sleeve* gastrectomy; metabolic syndrome.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Simulação de espectro de RNM	23
Figura 2 –	Representação esquemática de obtenção dos espectros.	26
Quadro 1 –	Dados demográficos da pesquisa	26
Quadro 2 –	Estudos metabonômico por ^1H RNM em pacientes obesos submetidos a cirurgia bariátrica.	28
Figura 3 –	Distribuição das amostras em cada grupo	29
Figura 4 –	Espectro após processamento manual (amostra 1)	30
Figura 5 –	Matriz de bins com para construção dos modelos metabonômicos	31
Figura 6 –	Matriz normalizada por SNV	32
Figura 7 –	LDA - valores preditos versus valores observados. Em destaque, as amostras que foram classificadas no grupo errado.	34
Figura 8 –	Modelo metabonômico para discriminação das amostras de pacientes que apresentaram reganho de massa após cirurgia bariátrica. LDA - valores preditos versus valores observados. Em destaque, as amostras que foram classificadas no grupo errado.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Matriz de classificação do modelo metabonômico I (LDA, 5 variáveis, 33 amostras).	33
Tabela 2 –	Matriz de classificação do modelo metabonômico II (LDA, 5 variáveis, 33 amostras).	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-HB	ácido beta hidroxibutírico
ACP	análise de componentes principais
AD	análise discriminante
BCAA	aminoácidos de cadeia ramificada
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
DMT2	diabetes mellitus tipo 2
DQF	Departamento de Química Fundamental
GLP1	peptídeo glucagon like 1
GPYR	gastrectomia parcial em Y de Roux
HbA1c	hemoglobina glicada
IHME	Instituto de Métrica e Avaliação em Saúde
IMC	índice de massa corpórea
LDA	<i>Linear Discriminants Analysis</i>
LOOCV	<i>Leave-One-Out Cross Validation</i>
NCEP-ATP III	<i>National Cholesterol Education Program</i>
PIDG	peptídeo insulínico dependente de glicose
RNM	ressonância nuclear magnética
SNV	<i>Standard Normal Variate</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
VIGITEL	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico
VPN	preditivo negativo
VPP	valor preditivo positivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA	12
1.2	JUSTIFICATIVA DA INVESTIGAÇÃO	13
1.3	OBJETIVOS	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1	OBESIDADE	15
2.2	SÍNDROME METABÓLICA	17
2.3	DIABETES MELLITUS E CIRURGIA BARIÁTRICA	18
2.4	REGANHO DE PESO APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA	19
2.5	ESTUDO METABONÔMICO	20
3	MÉTODO	27
3.1	LOCAL DE ESTUDO	27
3.2	TIPO DE ESTUDO	27
3.3	SELEÇÃO	27
3.3.1	Seleção dos pacientes	27
3.4	PROCEDIMENTOS	29
3.4.1	Procedimentos técnicos	29
3.4.1.1	<i>Análise estatística</i>	29
3.4.2	Procedimentos éticos	32
3.4.2.1	<i>Aprovação pelo comitê de ética</i>	32
4	RESULTADOS	33
5	DISCUSSÃO	36
6	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIA	40
	APÊNDICE A – VERSÃO DO MANUSCRITO	47
	APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	66
	ANEXO A – COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA EM HUMANOS	68

1 INTRODUÇÃO¹

1.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

A obesidade é definida como aumento do excesso de gordura corporal e tem etiologia multifatorial ainda não bem elucidada, envolvendo doenças genéticas, alterações da atividade metabólica, endócrina e transtornos nutricionais ⁽¹⁻⁷⁾.

O tratamento clínico da obesidade tem resultados limitados, particularmente, para as formas mais graves e obesidade mórbida, sendo o tratamento cirúrgico atualmente a alternativa mais efetiva principalmente a médio e longo prazo para perda de peso nestes casos⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Pesquisadores demonstram que uma perda de peso equivalente por dieta, comparado à cirurgia bariátrica, promove menos benefícios no controle dos níveis glicêmicos. Inclusive, após a cirurgia, a remissão da diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) pode ser observada independente da perda de massa^(8,9). Além da perda de peso e controle da diabetes tipo 2, a terapia cirúrgica promove uma expressiva melhora a das comorbidades e outras doenças associadas à obesidade, como hipertensão arterial, dislipidemia, esteatose hepática, função cardiopulmonar, apneia obstrutiva do sono, cardiopatia, além na prevenção e tratamento de algumas neoplasias⁽¹⁰⁻¹⁵⁾.

No entanto, a longo prazo, observa-se uma recaída da diabetes em 10-43% daqueles que tiveram uma remissão inicial após a cirurgia bariátrica ou metabólica. A recidiva está associada a muitos anos de diabetes diagnosticada, baixa reserva pancreática, pouca perda de peso, descontrole alimentar, grave desregulação metabólica requerendo insulinoterapia no pré-operatório e reganho de peso^(10,16-18).

As moléculas de incretinas (principalmente o peptídeo glucagon like 1 -GLP1) e de peptídeo insulínico dependente de glicose (PIDG) tem sido apontadas como motivadoras do controle glicêmico pós-operatório, antes bloqueadas na DMT2. Essas mudanças podem aparecer com uma a seis semanas após a cirurgia, e não são observadas com a perda de peso induzida por dieta⁽⁸⁾. No entanto, os mecanismos moleculares associados a cura e recidiva de diabetes no pós-operatório ainda não estão bem elucidados.

¹Tese formatada conforme orientação da Biblioteca Central e Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da UFPE: ABNT NBR 14724:2011. Versão do manuscrito a ser publicado na Revista Obesity, após correções (APÊNDICE A).

O termo metabólitos faz referência a pequenas moléculas que são substratos, intermediários ou produtos de processos biológicos⁽¹⁹⁾. Assim, a análise de metabólitos, através da metabonômica, ajuda a entender diferentes fenótipos e tem o potencial de diagnosticar doenças metabólicas, bem como avaliar sua gravidade, monitorar sua progressão e resultados de tratamento e prevenir^(20,21).

A metabonômica refere-se ao perfil abrangente de metabólitos presentes em células, tecidos ou organismos inteiros. Sua função tem caráter multifacetado e envolve ferramentas como a espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RNM) e formalismo de estatística multivariada, tais como análise de componentes principais (PCA), análise discriminante (DA) e regressão por mínimos quadrado (PLS)⁽²²⁻²⁴⁾.

A estratégia metabonômica neste estudo, pode ser considerada uma alternativa pouco invasiva para avaliar o prognóstico da regressão do diabetes mellitus tipo 2, especificamente após cirurgia bariátrica.

Técnicas de metabolização já são utilizadas para estudar as mudanças de metabólitos e vias metabólicas em pacientes com diabetes mellitus tipo 2, no entanto, poucos estudos avaliaram o papel dos metabólitos como prognóstico de cura ou recidiva após o tratamento cirúrgico da obesidade em pacientes diabéticos.

1.2 JUSTIFICATIVA DA INVESTIGAÇÃO

É um desafio para a comunidade acadêmica entender os mecanismos moleculares envolvidos na diminuição de massa nos pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, bem como os benefícios metabólicos e a forte associação com a cura do diabetes mellitus tipo 2 (DMT2).

Neste estudo, nós admitimos a hipótese que ao encontrarmos as diferenças de perfis metabonômicos no plasma de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica com e sem remissão de DMT2, poderemos prever quem responderá a cirurgia com cura ou controle parcial da doença, podendo esta funcionar como indicação terapêutica.

A caracterização de um modelo prognóstico e descoberta de um biomarcador para este fim consolidará sua aplicação clínica.

A viabilidade econômica, embora ainda difícil na prática clínica atual, é bastante promissora, uma vez que os novos aparelhos de RNM estão vindo acoplados de módulos de RMS, mostrando que possivelmente no futuro poderão ser adquiridos

espectros de boa qualidade durante exames de imagens convencionais sem a necessidade de grande acréscimo financeiro.

No momento, o exame de RNM de crânio acoplado com espectrometria é realizado para investigação neurológica e possui custo estimado de R\$ 268,75, conforme a tabela do Sistema único de Saúde (SUS)⁽²⁵⁾ e já consta no rol de procedimentos da Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS)⁽²⁶⁾. Estima-se que a utilização da RNM na avaliação de pacientes diabéticos obesos candidatos ao tratamento cirúrgico não tenha um valor muito diferente.

Não obstante, este estudo limita-se a investigação da viabilidade clínica da estratégia metabonômica e, não propriamente, da identificação de um biomarcador. Em tempo, espera-se no futuro, poder elucidar o uso de biomarcadores pela estratégia metabonômica por RNM como uma ferramenta útil para avaliar o prognóstico da remissão da diabetes após a cirurgia bariátrica.

1.3 OBJETIVOS

Analisar a utilização de modelo metabonômico para avaliação da regressão do diabetes mellitus tipo II após cirurgia bariátrica. Da mesma forma, construir modelos metabonômicos baseados em RMN de ^1H , visando discriminar pacientes que tiveram reganho de massa pós-cirurgia bariátrica dos que não tiveram.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 OBESIDADE

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo de excesso de massa adiposa localizada ou generalizada no organismo, provocada por desequilíbrio alimentar associado ou não a distúrbios genéticos ou endócrinos metabólicos. A definição de obesidade mais utilizada é baseada no índice de Massa Corporal ($IMC = \text{Peso} \times \text{altura}^2$), que retrata o excesso de peso, porém sem definir exatamente o conteúdo corporal de gordura ou massa magra. A adiposidade localizada na região central do corpo, mais especificamente a adiposidade abdominal, está associada a um maior risco de doenças cardíacas e metabólicas⁽²⁷⁻³⁰⁾.

O estilo de vida da sociedade contemporânea é apontado como o principal responsável pelo rápido crescimento da prevalência de obesidade que é resultante do desequilíbrio crônico entre a energia ingerida e gasta. O acúmulo de gordura é causado, invariavelmente, por um desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto de energia, um problema de solução aparentemente simples. No entanto, até hoje pouco se tem conseguido fazer para reverter ou mesmo conter a progressão desse problema.

Conforme dados da OMS, em 2017, mais de 1.9 bilhão de adultos maiores de 18 anos foram considerados acima do peso ($IMC > 25 \text{ kg/m}^2$) em todo o mundo, dos quais 650 milhões classificados como obesos ($IMC > 30 \text{ kg/m}^2$), representando 13% da população mundial⁽³⁰⁾.

Segundo a pesquisa que foi considerada uma das análises mais abrangentes feitas sobre o tema obesidade: *Global Burden of Disease*, conduzida pelo Instituto de Métrica e Avaliação em Saúde (IHME), da Universidade de Washington, nos Estados Unidos e publicada na revista *The Lancet*, existem hoje em todo o mundo 2,1 bilhões de pessoas obesas ou com sobrepeso, o que representa quase 30% da população. Em 1980, esse número era de 857 milhões. O aumento da obesidade nas últimas três décadas ocorreu em todas as regiões do mundo, representando um problema de saúde pública em países ricos e pobres. O estudo analisou informações de crianças, adolescentes e adultos de 188 países, reunindo dados de pesquisas, censos estatísticos e artigos científicos em todas as regiões do planeta entre 1980 e 2013. O trabalho aponta para a necessidade de uma ação global conjunta para combater a

epidemia crescente de obesidade. Tradicionalmente, a obesidade e suas doenças relacionadas têm sido consideradas um problema nos países ocidentais. No entanto, nas últimas duas décadas, a urbanização em muitos países asiáticos levou a um estilo de vida sedentário e super-nutrição, preparando o cenário para a epidemia de obesidade⁽³¹⁻³³⁾.

Em todo o planeta, a obesidade e sobrepeso aumentaram de 29% para 37% entre os homens e, entre as mulheres, de 30% para 38%. Os homens lideram o ranking nos países ricos e as mulheres, nos pobres. Entre as mulheres ficou claro que, quanto menor a instrução e a renda, maior é o peso. Para os homens, esses fatores não são tão importantes. Acredita-se que isso se deva a um menor acesso à informação, o que faz com que as mulheres deixem de ter uma alimentação variada. Além disso, o preço dos alimentos altamente calóricos é baixo. Entre os países ricos, o aumento de peso foi maior nos Estados Unidos (onde quase um terço da população adulta é obesa), Austrália (28% dos homens e 30% das mulheres) e Grã-Bretanha (um quarto dos adultos). Nas nações de maior renda, o aumento da obesidade acelerou-se entre 1992 e 2002 e diminuiu após 2006. Nas pobres, onde vivem quase dois terços dos obesos do mundo, o número não para de crescer^(32,33).

Um dos dados mais alarmantes da pesquisa é a constatação do aumento da obesidade e sobrepeso em crianças e adolescentes. Nos últimos 33 anos, essas condições cresceram 47% nessa faixa, enquanto nos adultos o crescimento foi de 28%. Nos países pobres, quase 13% dos meninos e 13% das meninas são obesos ou têm sobrepeso. Entre os ricos, o número é de 24% para os garotos e 23% para as garotas⁽³³⁻³⁵⁾.

No Brasil, a Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), em 2014, divulgou uma pesquisa evidenciando que mais da metade da população adulta está acima do peso. Segundo o estudo, 17% da população apresenta obesidade devido às mudanças nos hábitos de vida e aos fatores ambientais. A pesquisa revelou também, o incremento da obesidade que aumenta com o avanço da idade, com baixa escolaridade e maior frequência para os homens^(36,37).

A frequência de adultos com excesso de peso variou entre 47,7% em Palmas e 60,6% em Rio Branco. As maiores frequências de excesso de peso foram observadas, no caso de homens, em Rio Branco (65,8%), Cuiabá e Porto Alegre

(62,1%) e, para as mulheres, em Rio Branco (55,8%), Campo Grande (54,5%) e Salvador (54,1%). As menores frequências de excesso de peso ocorreram, entre homens, no Distrito Federal (50,6%), São Luís (50,9%) e Goiânia (52,4%) e, entre mulheres, em Palmas (41,7%), Florianópolis (42,1%) e Goiânia (45,1%). No conjunto das 27 cidades, a frequência de excesso de peso foi de 53,8%, sendo maior entre homens (57,7%) do que entre mulheres (50,5%). Essa condição tendeu a aumentar com a idade até os 64 anos. Entre as mulheres, a frequência de excesso de peso diminuiu com o aumento do nível de escolaridade^(36,37).

Em 10 anos, a prevalência da obesidade passou de 11,8% em 2006 para 18,9% em 2016, atingindo quase um em cada cinco brasileiros. Segundo a pesquisa, o crescimento da obesidade é um dos fatores que pode ter colaborado para o aumento da prevalência de diabetes e hipertensão, doenças crônicas não transmissíveis que pioram a condição de vida do brasileiro. O diagnóstico médico de diabetes passou de 5,5% em 2006 para 8,9% em 2016 e o de hipertensão de 22,5% em 2006 para 25,7% em 2016. Em ambos os casos, o diagnóstico é mais prevalente em mulheres^(38,39).

As mulheres têm maior adiposidade e menor massa muscular do que os homens e essas alterações são hormônio - dependente (estrogênios x testosterona). Já os homens têm maior tendência à adiposidade visceral (gordura abdominal), mesmo quando com sobrepeso. Isto é tão ou mais preocupante que o aumento de peso nas mulheres, já que há relação da obesidade visceral e doenças cardiovasculares, diabetes, dislipidemias e alta mortalidade⁽⁴⁰⁾.

2.2 SÍNDROME METABÓLICA

A SM é definida por critérios diagnósticos atuais, no entanto, ainda não está claro se os elementos definidores realmente representam todo o fenômeno. Para o diagnóstico de SM, são utilizados os critérios do *National Cholesterol Education Program* (NCEP-ATP III): obesidade abdominal (CC ≥ 102 cm em homens e ≥ 88 cm em mulheres), hipertrigliceridemia (≥ 150 mg / dl), baixa lipoproteína de alta densidade (HDL < 40 mg / dl em homens e < 50 mg / dl em mulheres), hipertensão (BP $> 130/85$ mm Hg ou em tratamento) e glicemia em jejum (> 110 mg)⁽⁴¹⁾.

Em essência, a síndrome metabólica agrupa os fatores de risco cardiovascular da obesidade abdominal com diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e dislipidemia. No

entanto, medidas de gordura visceral e hepática não fazem parte da definição atual. Apesar disso, a adiposidade visceral e a esteatose hepática demonstraram ser fatores-chave na síndrome metabólica^(1,27,42,43).

Há um aumento da prevalência da síndrome metabólica em todo o mundo, à medida que as taxas de obesidade continuam a crescer⁽⁴⁴⁾. Além de impor ao indivíduo um forte estigma social, a obesidade é fator de risco importante para diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial sistêmica, dislipidemia, aterosclerose, doenças respiratórias, e alguns tipos de câncer, impactando a qualidade de vida e a longevidade da população. Existe uma forte relação entre o excesso de peso aos 50 anos de idade e o risco de morte por qualquer causa em homens e mulheres que nunca fumaram. Mesmo com elevações moderadas no IMC, há um maior risco de morte em relação aos indivíduos de peso normal^(5,45,46).

2.3 DIABETES MELLITUS E CIRURGIA BARIÁTRICA

O tratamento cirúrgico da obesidade mostra-se superior em relação ao tratamento medicamentoso no controle da glicemia, assim como os resultados alcançados com a cirurgia bariátrica podem retardar ou diminuir a progressão da nefropatia diabética^(47,48).

O Diabetes Surgery Study trata-se de um ensaio clínico que, ao longo de 12 meses, comparou o manejo medicamentoso intensivo, ou combinado com DGYR para o controle da diabetes, hipertensão, e hiperlipidemia, conduzido em quatro centros acadêmicos; dois em Taiwan e dois nos Estados Unidos. Pacientes submetidos à cirurgia perderam mais massa corporal (26,1% vs 7,9%) e necessitaram menos medicações (1,7 vs 4,8) do que o tratamento medicamentoso isolado. Os pontos de corte considerados como objetivos do tratamento foram: HbA1c (hemoglobina glicada) < 7%, colesterol LDL abaixo de 100, pressão sanguínea sistólica abaixo de 130 mmHg. Esses objetivos foram alcançados por 48,5% dos casos de GPYR e 19% dos pacientes submetidos à otimização do uso de medicamentos⁽⁴⁹⁾.

Cerca de 20% dos obesos mórbidos são diabéticos⁽⁵⁰⁾. Não seria surpreendente que a perda de peso nesses pacientes melhorasse o controle glicêmico. Foi observado que o controle glicêmico é alcançado em semanas, antes mesmo da queda maior no peso, o que sugere que há outros fatores além da perda

de peso em si que contribuem para os efeitos benéficos da cirurgia no controle glicêmico⁽⁵¹⁾. Entre outros benefícios, a cura do diabetes mellitus tipo II foi observada em cerca de 40 a 50% dos casos, nos demais houve melhora⁽⁵²⁾. Alguns estudos demonstraram que pacientes com curta história de DMT2, em insulinoterapia, foram aptos a cessar o tratamento, por terem atingido o controle glicêmico, devido às modificações metabólicas promovidas pela cirurgia com Roux-en-Y. O mesmo não foi demonstrado para cirurgia gástrica apenas restritiva^(53,54).

Hormônios intestinais que promovem saciedade (peptídeo YY (PYY), GLP-1) não demonstram a mesma magnitude de resposta no seguimento de cirurgias restritivas gástricas, da forma como é observada com a cirurgia com a derivação ^(54,55).

Estudos demonstram que uma perda de peso equivalente por dieta, comparado a cirurgia, promove menos benefício em relação a esta última no controle dos níveis glicêmicos. Inclusive, a remissão da DMT2 pode ser observada independente da perda de massa^(8,9). As moléculas de incretinas (principalmente o peptídeo glucagon like 1 - GLP1) e de peptídeo insulinotrópico dependente de glicose (GIP) tem sido apontadas como motivadoras do controle glicêmico pós-operatório, antes bloqueadas na DMT2. Essas mudanças podem aparecer com uma a seis semanas após a cirurgia, e não são observadas com a perda de peso induzida por dieta⁽⁸⁾. Os fatores que predizem essa melhora no perfil glicêmico são uma curta história de doença, grande perda de massa, mudança no estilo de vida e controle dos níveis glicêmicos com medicamentos. Longa duração da diabetes, pouca perda de peso e severa desregulação metabólica requerendo insulinoterapia são preditivos de menor resposta no controle glicêmico com a cirurgia⁽⁵⁴⁾. Em longo prazo, há uma recaída da diabetes em 10-43% daqueles que tiveram uma remissão inicial. Tal situação está associada a muitos anos de diabetes diagnosticada, pouca perda de peso, em longo prazo, e reganho de peso^(10,16).

2.4 REGANHO DE PESO APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA

Com o aumento cumulativo do número de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, a recuperação do peso no pós-operatório tornou-se um desafio considerável. Os mecanismos para o reganho de peso não são totalmente compreendidos e o processo é provavelmente multifatorial em muitos casos. Segundo

pesquisadores, a recuperação do peso após a cirurgia bariátrica é devido a uma combinação complexa de fatores técnicos, fisiológicos, comportamentais e psicossociais⁽⁵⁷⁾.

A literatura aponta como reganho de peso um aumento de mais de 15% do peso ou um aumento do IMC de 5 kg / m² após a cirurgia bariátrica⁽⁵⁷⁻⁶⁵⁾. Rolim et al. Demonstraram em acompanhamento a longo prazo de 42 pacientes, reganho de peso patológico (15% do peso mínimo) em 64,04% da amostra⁽⁵⁸⁾.

O reganho do peso corporal pós-bariátrica inclui fatores específicos do paciente e do procedimento e engloba fatores homeostáticos, ambientais, inatividade física, falha cirúrgica anatômica e distúrbios mentais^(59,66).

Estudo mostrou que a gastroplastia vertical alterou negativamente o comportamento alimentar pós-operatório em relação a doces e sorvetes, o que, em parte, explica os resultados de perda de peso inferior em comparação com o *bypass* gástrico em Y de Roux; uma taxa de falha de quase 80% foi relatada 10 anos após a gastroplastia vertical⁽⁵⁸⁾.

Pesquisadores relataram em um estudo retrospectivo com cinco anos de seguimento, que aproximadamente metade dos pacientes recuperou o peso durante nos dois primeiros anos (46% em 24 meses e 63,6% em 48 meses)⁽⁶⁷⁾. Outros relataram uma taxa de falha de longo prazo aproximadamente 35%, com a incapacidade de atingir um índice de massa corpórea (IMC) <35 kg / m² em 60% dos superobesos (> 50 kg / m²)^(68,69).

2.5 ESTUDO METABONÔMICO

Por definição, a metabonômica é uma “medida quantitativa da resposta metabólica dinâmica e multiparamétrica dos organismos vivos às modificações fisiopatológicas ou genéticas”⁽²²⁾. Envolve a determinação do perfil dinâmico e tempo dependente, dos metabólitos dentro do organismo e como eles se alteram em decorrência de algum processo biológico⁽⁷⁰⁾.

É muito frequente encontrarmos na literatura os termos “metabonômica” e “metabolômica” como sinônimos. Entretanto, na estratégia “metabolômica”, o pesquisador busca uma descrição analítica das amostras biológicas e tem por objetivo a identificação e quantificação dos metabólitos presentes no biofluido e que poderia

estar associado a uma discriminação de grupos com estados metabólicos diferentes, como uma patologia específica^(71,72).

Já no caso da “metabonômica”, a identificação de todos os metabólitos não é o objetivo principal, mas sim a busca por perfil de metabólitos endógenos, associados a um estado metabólico específico. Embora sutis, observa-se as diferenças de estratégias de cada método e consequentemente as diferenças analíticas. Na “metabolômica”, em função da necessidade de identificação de cada metabólito, frequentemente, utiliza-se uma técnica de separação de misturas, como a cromatografia em fase gasosa ou líquida, associada a um sistema de detecção com alta sensibilidade, como a espectrometria de massas. Já na “metabonômica” é mais frequente o uso da espectrometria de RNM, sem a separação prévia dos componentes da mistura⁽⁷¹⁾.

A metabonômica fundamenta-se no princípio da homeostasia, ou seja, se um ser vivo é exposto a uma situação de estresse, doença ou a algum agente químico, o organismo responde na tentativa de neutralizar esta ação externa, havendo mudanças na concentração e no fluxo dos metabólitos endógenos, quebrando o equilíbrio, desencadeando ajustes do ambiente extracelular, de forma a manter o meio interno estável. É essa alteração no perfil metabólico que pode ser avaliada pela espectroscopia de RNM^(22,71,73), esperando a partir destes espectros identificar um determinado perfil para cada agressão específica. Outros métodos podem ser empregados para estudar este perfil metabólico, como a espectrometria de massa, a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, a cromatografia líquida de alta performance ou a técnica de espectrometria óptica, mas a RNM e a espectrometria de massa são as melhores técnicas devido à produção rápida e adequada dos conjuntos metabólicos⁽⁷⁴⁾.

Na área da saúde quando se fala em RNM, vem à tona a Ressonância Nuclear Magnética de Imagem (RNMI), que é um método diagnóstico capaz de gerar imagens pela medida das moléculas de água, permitindo distinguir tecidos moles com nitidez e sem usar radiação ionizante. Recentemente a utilização da espectroscopia de RNM vem aumentando, principalmente com a associação deste método aos scanners convencionais de RNMI. A RMS fornece informações sobre a estrutura química e consequentemente dos metabólitos teciduais além das imagens⁽⁷⁵⁾.

Embora existam outros isótopos, como o ^{13}C , ^{31}P e ^{15}N , a abundância natural do isótopo de hidrogênio-1 (99,98%) e sua ocorrência no organismo fazem com que

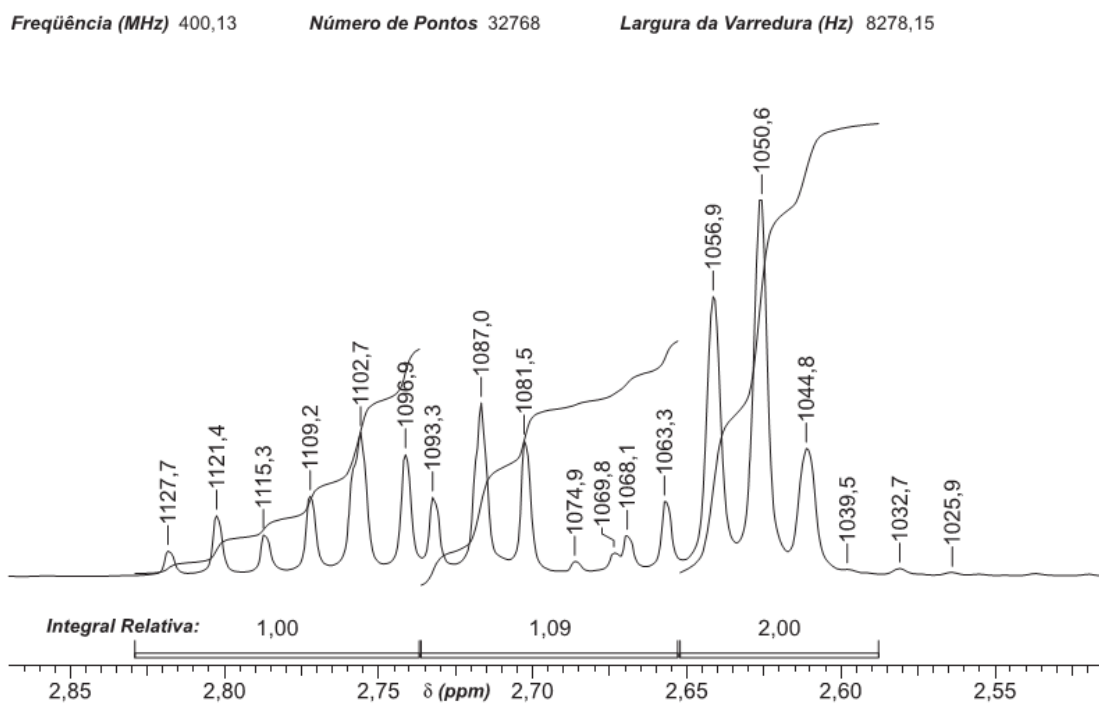
a RNM de ^1H seja escolhida para gerar o perfil de biomateriais. Esta técnica fundamenta-se na interação dos núcleos atômicos com a radiação eletromagnética, quando estes estão sujeitos a um campo magnético. Os núcleos atômicos possuem um spin, que faz com que os núcleos se comportem como barras magnéticas muito pequenas⁽⁷⁴⁾.

Na presença de um campo magnético, alinham-se a favor ou contra este campo, originando diferentes estados de energia. Quando se irradia a amostra com a correta radiofrequência, provoca-se a excitação dos spins que absorvem esta energia, posteriormente, liberando-as e fornecendo o espectro de RNM, sendo este representado graficamente pela intensidade destas absorções versus às frequências absorvidas⁽⁷⁶⁾.

O espectro de RNM pode detectar vários componentes em uma única medida e nele cada metabólito pode gerar um ou mais sinais (picos). A intensidade do sinal está relacionada à quantidade de spins e corresponde a concentração de determinado metabólito, refletindo alterações bioquímicas fisiológicas ou patológicas. Apesar da espectroscopia de RNM de ^1H ter seu papel inicial na elucidação das estruturas químicas, a técnica tem alcançado imenso e crescente valor em caracterizar as consequências de doenças e toxicidade por drogas ou modificações genéticas⁽⁷⁴⁾.

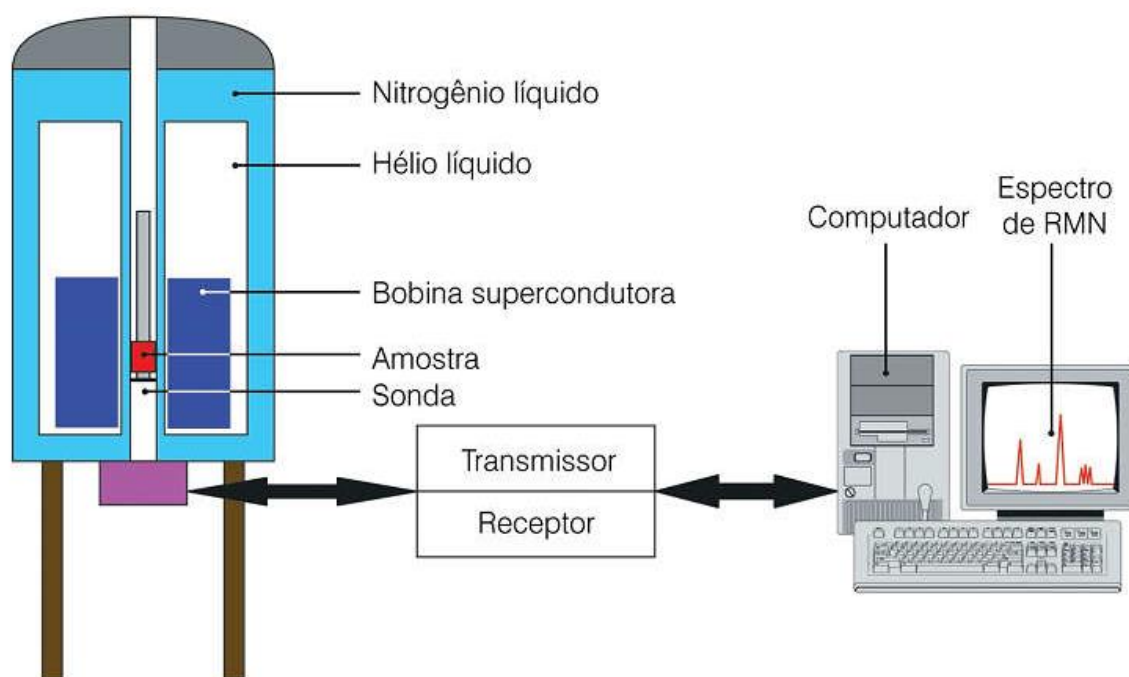
A princípio, todos os núcleos de um mesmo isótopo deveriam apresentar a mesma frequência de ressonância, mas o ambiente químico em que este está inserido provoca uma discreta alteração chamada de deslocamento químico (δ). Na prática, o δ é expresso em partes por milhão (ppm), ou seja, considerando que a frequência do núcleo é de origem em mega-hertz (MHz) e a alteração provocada pelo ambiente é da ordem de Hertz (Hz), o espectro é representado em uma dimensão que tem δ e na outra a intensidade dos sinais. O que significa que a mesma substância apresenta sinais diferentes no espectro de RNM de ^1H , fornecendo dados acerca da estrutura química das espécies⁽⁷⁷⁾. Para exemplificar a Figura 1 é uma representação gráfica das regiões espectrais, onde os metabólitos podem ser identificados. A Figura 2 representa um esquema para a obtenção deste espectro.

Figura 1 – Simulação de espectro de RNM



Fonte: Constantino et al.⁷⁸, 2006

Figura 2 – Representação esquemática de obtenção dos espectros



Fonte: Colnago et al.⁷⁹, 2002

A estratégia metabonômica utiliza biofluidos, que via de regra são obtidos de forma não invasiva, como urina, ou pouco invasiva como amostras de soro ou plasma^(69,70). Além destes, existem estudos que mostram a utilização de biofluidos não convencionais como fluido cérebro espinhal, bile, fluido seminal, fezes e biofluidos de origem vegetal⁽⁷¹⁾.

Uma vez suprimido o sinal da água, um grande número de metabólitos serão detectados, ocorrendo uma sobreposição de sinais devido à estreita faixa para deslocamento químico, aproximadamente 10 a 12 ppm, especialmente em espectômetros de campo magnético médio (4,7T a 9,45T, com frequências de 200 a 400 MHz). Os aparelhos de amplo espectro, por exemplo, com 18,8T e frequência de 800MHz, apresentarão um maior sinal de dispersão e contribuirão para o aumento da complexidade do espectro e sua sensibilidade⁽⁷⁴⁾.

Um fator limitante para a informação gerada é a complexidade, havendo centenas de variáveis que dificilmente poderiam ser processadas manualmente, necessitando de uma estratégia estatística avançada. A estratégia aplicada a dados químicos numéricos, ou quimiometria, para reduzir e redimensionar o conjunto de dados é a estatística multivariada. Esta técnica pode ser supervisionada ou não supervisionada. O método não supervisionado é utilizado para estabelecer se existe algum agrupamento dentro no conjunto de dados, mapeia as amostras de acordo com suas propriedades sem o conhecimento das classes das amostras, já as técnicas supervisionadas utilizam informações de classes para treinar um grupo de amostras de dados, otimizando a separação entre duas ou mais classes⁽⁷²⁾.

O método não supervisionado, também chamada de técnica de reconhecimento de padrão, possui como método mais frequente a análise dos componentes principais (PCA), onde a matriz dos dados originais é projetada em um subespaço definido por combinações lineares com máxima variância. Assim, o primeiro componente principal (PC1) é o eixo que descreve o máximo possível de variância no espaço multidimensional original e a segunda é o componente ortogonal, que estatisticamente não está relacionada com o PC1 e descreve o máximo de variância ainda não descrito pela PC1. AS duas ou três primeiras PCs fornecem as melhores representações possíveis em termos de bioquímica⁽⁷²⁾.

Já as técnicas supervisionadas mais comuns são a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e sua variante ortogonal (OPLS-DA), análise discriminante linear (LDA), análise de classificação simples (SIMCA – “soft

independent modelling of class analogy”), entre outras que permitem analisar os espectros de forma mais simples rápida e reprodutível⁽⁷⁶⁾.

Cada biofluido possui uma característica própria, composição bioquímica única, que se altera em resposta a estímulos fisiológicos ou patológicos, promovendo uma “impressão digital” metabólica, a qual é específica da natureza ou sítio de agressão²². A melhor maneira de obter as principais informações metabonômicas é pela combinação de espectroscopia de RNM com métodos estatísticos multivariados e métodos quimiométricos, permitindo identificar mudanças no perfil metabólico dos biofluidos endógenos. Embora existam outros métodos para produzir e analisar o perfil metabólico de cada biomaterial, tais como a espectometria de massa (MS), a cromatografia gasosa acoplada a espectometria de massas (GC/MS), a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) ou técnicas de espectrometria óptica, a RNM e a MS são as melhores técnicas uma vez que podem produzir um conjunto de dados metabonômicos de forma rápida e adequada⁽⁷⁶⁾.

A construção de um modelo quimiométrico deste perfil é realizada através de softwares que analisam os espectros dos biofluidos com determinadas enfermidades, na expectativa de encontrar um padrão. Uma grande preocupação em relação ao uso clínico da metabonômica é a possível variação inerente a cada paciente, principalmente quando comparadas a modelos animais, onde o controle é muito mais rigoroso. Apesar da grande variação existente na população humana, o emprego de análises matemáticas multivariadas consegue obter uma resposta adequada retirando os fatores individuais inerentes⁽⁷⁶⁻⁷⁹⁾.

Perfil metabólico por ^1H RNM têm apresentado alterações no metabolismo basal associadas à homeostase energética após cirurgia bariátrica, com diminuição da glicose e aumento de acetato e lactato, diminuição de BCAA e alterações no metabolismo lipídico^(80,81). Uma série de estudos avaliou o padrão metabonômico por ^1H RNM do efeito da cirurgia bariátrica em pacientes obesos com diabetes mellitus tipo 2⁽⁸⁰⁻⁸²⁾, os três principais encontram-se resumidos na tabela a seguir (Quadro 1):

Quadro 1 – Estudos metabonômico por ^1H RNM em pacientes obesos submetidos a cirurgia bariátrica.

Autor	Técnica Metabonômica	Grupo Observado	Tempo	Resultados principais
Lopes et al. ⁽⁸⁰⁾ 2016	^1H RNM	10 pacientes com obesidade e DM2	Pré e 12 meses pós-op	Abordagem metabolômica baseada no tempo de RMN- ^1H . Mais rápida absorção de glicose no pós-op.; decréscimo nos níveis de lactato e BCAA. Aumento de valina, isoleucina e leucina.
Lopes et al. ⁽⁸¹⁾ 2015	^1H RNM	10 pacientes com obesidade e DM2	Pré e 12 meses pós-op.	Maiores níveis de leucina, isoleucina, valina, treonina, lactato e glicose no pré-operatório. Acetato, glutamina/ glutamato, metilamina, dimetilamina, O-acetil-carnitina e carnitina maiores no pós-operatório.
Kwon et al. ⁽⁸²⁾ 2014	^1H RNM	22 pacientes com obesidade e DM2	7 dias, e nova avaliação nos 3 meses pós-operatório.	Assinaturas metabólicas do pós-operatório mais precoce (7 dias) podem estar correlacionadas com o controle glicêmico aos 3 meses após a cirurgia, via HbA1c. Com base nos níveis de 3-HB, glicose e HbA1c.

BCAA – Aminoácidos de cadeia ramificada; HbA1c-Hemoglobina glicada; 3-HB – Ácido beta hidroxibutírico; DM2 – Diabetes Mellitus tipo 2; ^1H RNM – Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio. Fonte: Autora (2019)

3 MÉTODOS

3.1 LOCAL DE ESTUDO

O estudo foi desenvolvido no ambulatório de Cirurgia Geral do Hospital das Clínicas e no Laboratório Central Analítica do Departamento de Química Fundamental - UFPE.

3.2 TIPO DE ESTUDO

O estudo foi do tipo transversal observacional em pacientes diabéticos que foram submetidos à cirurgia bariátrica.

3.3 SELEÇÃO

3.3.1 Seleção dos pacientes

Participaram do estudo 33 pacientes obesos diabéticos tipo 2 que realizaram cirurgia bariátrica, através de qualquer técnica, após 2 anos do procedimento, e (a) tiveram remissão completa da mellitus tipo 2 e (b) tiveram recidiva da diabetes mellitus tipo II ou não tiveram remissão da doença no pós-operatório (Quadro 2).

Foi definido como recidiva de diabetes com pacientes que permaneciam em uso de insulina ou com hemoglobina glicada > que 7mg/dl.

Foi definido como ganho de peso patológico o aumento de mais de 15% em relação ao peso mínimo alcançado.

Todos os participantes da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). As amostras de sangue foram coletadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFPE, onde foram realizadas todas as determinações de rotina. Amostras de soro de cada paciente foram encaminhadas à Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE para a obtenção dos espectros de RMN de ^1H .

Quadro 2 – Dados demográficos da pesquisa

Sexo	3 H (12%) 30 M (88%)			
Recidiva DM2	11 Sim (35,3%) 22 Não(64,7%)			
	Mínimo	Máximo	Média	Desvio Padrão
Idade (Anos)	32	67	51	9,10
Tempo de cirurgia (Anos)	2	6	3	1,38
IMC pré-op. (Kg/m ²)	35,1	70	46,05	6,76
IMC pós-op. (Kg/m ²)	18	44,3	31,3	5,71
HbA1c (%) Recidiva DM2	5,5	10,5	7,45	1,24
HbA1c (%) Sem Recidiva DM2	4	6	4,5	0,53

Fonte: Autora (2019)

Foram constituídos dois universos de pesquisa, cada qual contendo dois grupos, sendo: (1) Investigação da regressão da diabetes mellitus 2 pós-cirurgia bariátrica.

- Grupo I: Pacientes que apresentaram regressão do quadro de diabetes mellitus após intervenção cirúrgica;
- Grupo II: Pacientes que não apresentaram regressão do quadro de diabetes mellitus após intervenção cirúrgica.

O segundo grupo consiste em (2) Investigação do reganho de peso pós-cirurgia bariátrica.

- Grupo I: Pacientes que não apresentaram reganho de peso após intervenção cirúrgica;
- Grupo II: Pacientes que apresentaram reganho de peso após intervenção cirúrgica.

3.4 PROCEDIMENTOS

3.4.1 Procedimentos técnicos

3.4.1.1 Análise estatística

Foram utilizadas 33 amostras de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, sendo 11 (33,3%) de pacientes com recidiva para diabetes e 22, não. O estudo de ganho de massa foi realizado utilizando 10 (30,3%) amostras de pacientes que apresentaram ganho de massa, nesse universo de 33 voluntários. Desses, 5 (15,2%) apresentaram simultaneamente ganho de massa e recidiva do quadro de diabetes. A figura 3 apresenta, de forma esquemática, a distribuição das amostras utilizadas no estudo preliminar.

Figura 3 – Distribuição das amostras em cada grupo



Fonte: Autora (2019)

Foram criados 02 modelos metabonômicos, usando o formalismo LDA (*Linear Discriminants Analysis*), como segue: Modelo 1 – Diabetes mellitus tipo 2 pós-cirurgia bariátrica (11 positivos versus 22 negativos); e Modelo 2 – Ganho de massa pós-cirurgia bariátrica (10 positivos versus 23 negativos). Todos os modelos foram validados por LOOCV (*Leave-One-Out Cross Validation*), sendo os valores de acurácia, sensibilidade, especificidade, VPN e VPN extraídos da matriz de classificação após validação cruzada.

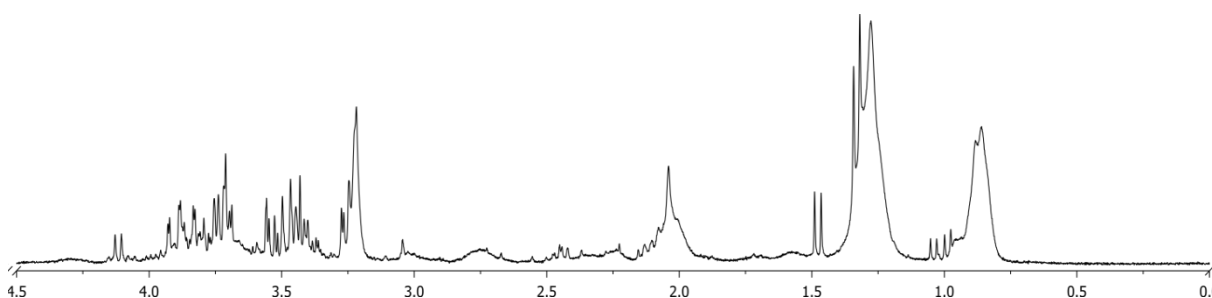
O método de validação cruzada, dispensa um grupo de teste, diminuindo o número de análises.

As amostras foram preparadas usando 400 μL do soro de sangue e 200 μL de água deuterada. Os espectros de RMN de ^1H foram obtidos usando um espectrômetro de RMN de 9,0 T, operando a 400 MHz para o núcleo de ^1H . A sequência de pulsos HPRESAT, que faz supressão do sinal da água, e, em seguida, a CPMG foi utilizada para a obtenção dos espectros, usando os seguintes parâmetros: janela espectral de 4.807 Hz, tempo de aquisição igual a 1,704 s, tempo de espera igual a 2 s, pulsos de RF de 90° igual a 13.200 e 128 repetições. Os espectros foram processados com *linebroadening* igual a 0,3 Hz e dividido em regiões iguais a 0,04 ppm, no intervalo compreendido entre δ 0,0 a 4,5 ppm. Foi excluída a região após δ 4,5 ppm. As linhas de base e as fases dos espectros foram corrigidas manualmente.

Cada espectro foi processados com *linebroadening* igual a 0,3 Hz e divididos em regiões de mesma largura iguais a 0,04 ppm (bins), no intervalo compreendido entre δ 0 a 4,5 ppm, dando um total de 113 bins, utilizando o Software MestReNova 12.0. Foram excluídas as regiões após 4,5 ppm, que contém o sinal da água.

As linhas de base foram corrigidas automaticamente pelo método de Polinômio de Bernstein e as fases dos espectros foram corrigidas manualmente. A Figura 4 abaixo exemplifica como ficaram os espectros após esses processamentos manuais.

Figura 4 – Espectro após processamento manual (amostra 1).



Fonte: Autora (2019)

Uma matriz foi construída com os dados destes bins, onde os bins de cada amostra são convertidos em uma matriz linha (cada linha na matriz representa uma amostra, ou seja, um espectro), na qual os elementos são preenchidos com a integral do bin correspondente a cada coluna (variáveis), resultando em uma matriz com 34 linhas (33 das amostras mais a linha de classificação) e 166 variáveis (113 dos bins mais as variáveis de classe), que foi submetida ao tratamento quimiométrico de análise estatística multivariada (Figura 5).

Figura 5 – Matriz de bins com para construção dos modelos metabonômicos.

I36			f ₆																	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
1	Amostras	REGANHO	RECIDIVA DM	0,039823	0,079646	0,119468	0,159291	0,199114	0,238937	0,278759	0,318582	0,358405	0,398228	0,438051	0,477873	0,517696	0,557519	0,597342	0,637164	0,676987
2	2	NÃO	NÃO	0,039741	0,245131	0,152915	0,116773	0,08288	0,001717	0,027019	0,018704	-0,00047	0,022891	0,051862	0,110757	0,125808	0,159295	0,200686	0,455333	0,71542
3	3	SIM	NÃO	-0,05729	0,087931	0,000435	-0,22915	-0,18768	-0,122	-0,18568	-0,08173	-0,197	-0,14295	-0,23028	-0,21377	-0,07282	0,025472	-0,02779	0,037246	0,263977
4	4	NÃO	SIM	-0,07429	0,075101	0,017012	-0,20117	-0,08421	-0,16663	-0,20841	-0,17267	-0,26663	-0,40348	-0,21276	-0,29945	-0,31645	-0,37478	-0,30859	-0,37848	-0,10907
5	5	SIM	SIM	0,091652	0,425928	0,230474	0,165291	0,152139	0,200719	0,080614	0,211233	0,209084	0,128938	0,354492	0,378487	0,396722	0,486078	0,493009	0,645983	1,03003
6	6	NÃO	NÃO	0,116938	0,334237	0,231437	0,030366	0,159149	0,172609	0,184667	0,212661	0,236961	0,286824	0,324468	0,376986	0,608776	0,60143	0,688811	0,917161	1,32958
7	7	NÃO	NÃO	0,387713	0,651513	0,532702	0,402768	0,507268	0,485237	0,572108	0,631978	0,711541	0,882936	0,905102	1,03332	1,09255	1,32832	1,52475	1,79434	2,32812
8	8	NÃO	NÃO	0,40066	0,54527	0,475787	0,348514	0,406569	0,514709	0,411255	0,589831	0,64851	0,659591	0,660888	0,847306	0,991321	1,13035	1,33156	1,59978	2,05459
9	9	NÃO	NÃO	-0,07804	0,113408	0,025286	-0,09007	-0,10704	-0,05732	-0,04826	0,087854	-0,03217	-0,10034	0,137296	0,107616	0,252127	0,308877	0,283417	0,548975	0,963116
10	10	SIM	NÃO	0,023449	0,33304	0,249047	0,048499	0,096614	0,069478	0,068169	0,034294	0,136638	0,133095	0,172731	0,282179	0,406692	0,361327	0,498037	0,60105	1,11924
11	11	NÃO	NÃO	0,184507	0,241548	0,176608	0,12597	0,119676	0,172182	0,19401	0,144478	0,115565	0,246634	0,210082	0,28649	0,462521	0,424373	0,632859	0,769696	0,98962
12	12	NÃO	SIM	0,542487	0,740994	0,684935	0,533932	0,696241	0,601214	0,748115	0,747961	0,828729	0,835235	0,993882	0,94778	1,06958	1,1665	1,47244	1,64898	2,2077
13	13	NÃO	NÃO	-0,07858	0,096305	0,125005	-0,0616	-0,10183	-0,00998	-0,06105	-0,00115	-0,06084	0,052262	0,034391	0,033096	0,084831	0,13338	0,224265	0,426382	0,885448
14	14	NÃO	NÃO	-0,03167	0,243545	0,076486	-0,08149	-0,02005	-0,09405	-0,02113	-0,03874	-0,00611	0,076447	-0,05395	-0,01685	0,101031	0,138787	0,288877	0,259509	0,706315
15	15	SIM	SIM	-0,03968	0,233955	0,069421	-0,09142	-0,02229	-0,10363	-0,02879	-0,04266	-0,00921	0,074852	-0,05451	-0,0191	0,108711	0,144342	0,29525	0,272171	0,724112
16	16	NÃO	NÃO	-0,08372	0,148791	0,137161	-0,02328	-0,0514	-0,01392	-0,04398	-0,0419	0,002572	0,037109	0,07171	0,127299	0,09825	0,120621	0,165777	0,243834	0,381982
17	17	NÃO	NÃO	-0,00288	0,095309	0,079703	-0,04029	-0,04611	0,013399	-0,03263	0,008743	-0,02288	-0,01566	0,026213	0,060894	0,077897	0,171214	0,198478	0,298451	0,547364
18	18	SIM	SIM	-0,04087	0,189913	0,154497	0,085125	0,083782	0,050428	-0,0041	0,08848	0,140747	0,050342	0,037973	0,122921	0,111348	0,06378	0,198128	0,380846	0,387957
19	19	SIM	NÃO	0,077782	0,280357	0,240253	0,10478	0,139931	0,127538	0,083748	0,06926	0,067519	0,192632	0,122122	0,135914	0,225035	0,330951	0,332968	0,423118	0,962955
20	20	SIM	SIM	0,137576	0,246671	0,12911	0,117745	-0,01455	-0,1273	-0,12239	-0,08618	-0,13122	-0,31058	-0,21308	-0,29676	-0,38931	-0,39541	-0,39107	-0,50108	-0,33739
21	21	SIM	SIM	0,057532	0,271286	0,16446	0,11946	0,074726	0,07681	0,098786	0,118463	0,136598	0,172093	0,151253	0,243745	0,365249	0,332714	0,393981	0,53141	0,799552
22	22	NÃO	SIM	-0,03385	0,403135	0,188822	-0,1162	-0,11323	-0,09599	-0,11536	-0,16024	-0,26615	-0,18424	-0,29669	-0,27126	-0,19084	-0,24029	-0,22706	-0,24539	-0,0079
23	23	NÃO	NÃO	-0,04282	0,351295	0,102649	-0,12625	-0,18934	-0,201	-0,1632	-0,23305	-0,23066	-0,14337	-0,30071	-0,21926	-0,26398	-0,15066	-0,25414	-0,20153	0,079174
24	24	NÃO	SIM	-0,20601	0,086763	0,00962	-0,20217	-0,27615	-0,20486	-0,23357	-0,32837	-0,37133	-0,2366	-0,24184	-0,34016	-0,17601	-0,30527	-0,24619	-0,17271	0,151534
25	25	NÃO	NÃO	-0,00171	0,13823	0,073554	-0,14377	-0,03967	-0,01976	0,030533	0,10123	0,085622	0,170701	0,193912	0,194638	0,260488	0,411244	0,548202	0,713921	1,10987

Fonte: Autora (2019)

A matriz de dados foi preprocessada usando a normalização pela soma (Standard Normal Variate - SNV) na linha (Figura 6) para realização do formalismo LDA, segundo a Equação 1 abaixo. Este processamento tem como finalidade minimizar qualquer tipo de erro, tais como variação na concentração, erro associado ao analista, etc. O pré-processamento impede que amostras com erros sistemáticos associados possam ter uma maior relevância na construção do modelo, sem alterar a informação contida na variável, para que, assim, as amostras possam ser comparadas entre si. Para construção do modelo, utilizou-se escores de cinco componentes principais, escolhidas pelo método de seleção de variáveis Lambda de Wilks.

$$x = \frac{(x_i - \bar{x})}{s} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde x é a intensidade do sinal num determinado deslocamento químico, x_i é a intensidade no espectro original (ou seja, a área de integração da variável i), $\bar{x}$ é a média de x para aquela amostra e s é o desvio-padrão de x na amostra.

Figura 6 – Matriz normalizada por SNV

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
38	Amostras	REGANHO	RECIDIVA DM	0,630833	0,630833	0,119468	0,159291	0,199114	0,238937	0,278759	0,318582	0,358405	0,398228	0,438051	0,477873	0,517696	0,557519	0,597342	0,637164	0,676987
39	2	NÃO	NÃO	-0,58879	-0,57535	-0,58139	-0,58375	-0,58597	-0,59128	-0,58963	-0,59017	-0,59143	-0,5899	-0,588	-0,58415	-0,58316	-0,58097	-0,57826	-0,56159	-0,54456
40	3	SIM	NÃO	-0,55913	-0,5559	-0,5559	-0,56875	-0,56643	-0,56275	-0,56632	-0,5605	-0,56695	-0,56393	-0,56881	-0,56789	-0,56	-0,5545	-0,55748	-0,55384	-0,54115
41	4	NÃO	SIM	-0,57576	-0,56812	-0,57109	-0,58226	-0,57627	-0,58049	-0,58263	-0,5808	-0,5856	-0,59261	-0,58285	-0,58728	-0,58815	-0,59114	-0,58775	-0,59133	-0,57754
42	5	SIM	SIM	-0,60144	-0,57971	-0,59241	-0,59665	-0,59751	-0,59435	-0,60216	-0,59367	-0,5938	-0,59902	-0,58435	-0,58279	-0,58161	-0,5758	-0,57535	-0,5654	-0,54043
43	6	NÃO	NÃO	-0,54798	-0,53537	-0,54133	-0,553	-0,54553	-0,54475	-0,54405	-0,54242	-0,54101	-0,53812	-0,53594	-0,53289	-0,51944	-0,51986	-0,51479	-0,50154	-0,4776
44	7	NÃO	NÃO	-0,50409	-0,49057	-0,49666	-0,50332	-0,49796	-0,49909	-0,49464	-0,49157	-0,48749	-0,4787	-0,47756	-0,47099	-0,46795	-0,45586	-0,44579	-0,43196	-0,40459
45	8	NÃO	NÃO	-0,6113	-0,59896	-0,60489	-0,61575	-0,61079	-0,60156	-0,61039	-0,59515	-0,59014	-0,5892	-0,58909	-0,57317	-0,56088	-0,54901	-0,53184	-0,50894	-0,47012
46	9	NÃO	NÃO	-0,66116	-0,64524	-0,65257	-0,66216	-0,66357	-0,65944	-0,65868	-0,64736	-0,65734	-0,66302	-0,64325	-0,64572	-0,6337	-0,62898	-0,6311	-0,60901	-0,57456
47	10	SIM	NÃO	-0,70146	-0,67162	-0,67971	-0,69904	-0,6944	-0,69702	-0,69715	-0,70041	-0,69055	-0,69089	-0,68707	-0,67652	-0,66452	-0,66889	-0,65572	-0,64579	-0,59585
48	11	NÃO	NÃO	-0,58962	-0,58542	-0,5902	-0,59393	-0,59439	-0,59053	-0,58892	-0,59256	-0,59469	-0,58505	-0,58774	-0,58212	-0,56917	-0,57197	-0,55664	-0,54657	-0,53039
49	12	NÃO	SIM	-0,64382	-0,63164	-0,63508	-0,64435	-0,63439	-0,64022	-0,6312	-0,63121	-0,62625	-0,62586	-0,61612	-0,61895	-0,61147	-0,60553	-0,58675	-0,57592	-0,54163
50	13	NÃO	NÃO	-0,46136	-0,45374	-0,45249	-0,46062	-0,46237	-0,45837	-0,4606	-0,45799	-0,46059	-0,45566	-0,45644	-0,4565	-0,45424	-0,45213	-0,44817	-0,43936	-0,41936
51	14	NÃO	NÃO	-0,68246	-0,65538	-0,67182	-0,68736	-0,68132	-0,6886	-0,68142	-0,68316	-0,67995	-0,67182	-0,68465	-0,681	-0,6694	-0,66569	-0,65092	-0,63381	-0,60984
52	15	SIM	SIM	-0,67971	-0,65276	-0,66896	-0,6848	-0,67799	-0,686	-0,67863	-0,68	-0,67671	-0,66843	-0,68117	-0,67768	-0,66509	-0,66159	-0,64673	-0,649	-0,6045
53	16	NÃO	NÃO	-0,80705	-0,76644	-0,76676	-0,79602	-0,80115	-0,79431	-0,7998	-0,79942	-0,79131	-0,78501	-0,7787	-0,76856	-0,77386	-0,76977	-0,76154	-0,7473	-0,7221
54	17	NÃO	NÃO	-0,68028	-0,66862	-0,67047	-0,68472	-0,68541	-0,67834	-0,68381	-0,67889	-0,68265	-0,68179	-0,67682	-0,6727	-0,67068	-0,65961	-0,65637	-0,6445	-0,61495
55	18	SIM	SIM	-0,7957	-0,76349	-0,76843	-0,77811	-0,7783	-0,78296	-0,79057	-0,77764	-0,77035	-0,78297	-0,78469	-0,77284	-0,77445	-0,78109	-0,76234	-0,73683	-0,73584
56	19	SIM	NÃO	-0,46577	-0,45696	-0,4587	-0,4646	-0,46307	-0,46361	-0,46551	-0,46614	-0,46622	-0,46077	-0,46384	-0,46324	-0,45936	-0,45475	-0,45467	-0,45074	-0,42725
57	20	SIM	SIM	-0,5849	-0,57661	-0,58555	-0,58641	-0,59647	-0,60504	-0,60467	-0,60192	-0,60534	-0,61898	-0,61156	-0,61793	-0,62496	-0,62543	-0,6251	-0,63346	-0,62101
58	21	SIM	SIM	-0,60519	-0,58592	-0,59555	-0,59961	-0,60364	-0,60345	-0,60147	-0,5997	-0,59806	-0,59486	-0,59674	-0,5884	-0,57745	-0,58038	-0,57486	-0,56247	-0,53829
59	22	NÃO	SIM	-0,63668	-0,60354	-0,61979	-0,64292	-0,6427	-0,64139	-0,64286	-0,64626	-0,65429	-0,64808	-0,65661	-0,65468	-0,64858	-0,65233	-0,65133	-0,65272	-0,63471
60	23	NÃO	NÃO	-0,71668	-0,67769	-0,70229	-0,72493	-0,73117	-0,73233	-0,72859	-0,7355	-0,73526	-0,72663	-0,74219	-0,73413	-0,73856	-0,72735	-0,73758	-0,73238	-0,70461
61	24	NÃO	SIM	-0,62215	-0,59623	-0,60477	-0,62181	-0,62836	-0,62205	-0,62459	-0,63298	-0,63679	-0,62486	-0,62532	-0,63403	-0,6195	-0,63094	-0,62571	-0,6192	-0,5905
62	25	NÃO	NÃO	-0,57913	-0,57102	-0,57477	-0,58737	-0,58133	-0,58018	-0,57726	-0,57317	-0,57407	-0,56914	-0,56779	-0,56775	-0,56394	-0,5552	-0,54726	-0,53765	-0,5147

Fonte: Autora (2019)

3.4.2 Procedimentos éticos

3.4.2.1 Aprovação pelo comitê de ética

O projeto foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE para análise e aprovação, como também seguiu os princípios que regem o Código de Ética Médica e as normas vigentes da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) criada pela resolução do Conselho Nacional de Saúde de número 466/12 e seguindo os princípios da declaração de Helsinque para pesquisa em Humanos (ANEXO A).

Avaliação ambulatorial dos pacientes que foram convidados a participar do estudo e a inclusão do mesmo somente foi permitida, através de assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE B).

4 RESULTADOS

No modelo I, para avaliação da recidiva da diabetes, foram selecionadas 05 variáveis para a construção do modelo, que resultou nas duas funções discriminantes apresentadas nas equações abaixo:

$$FD1 = -699,999.\delta_{0,56} - 257,116.\delta_{2,11} - 378,566.\delta_{3,03} - 703,369.\delta_{3,98} + 778,530.\delta_{4,02} - 247,463$$

$$FD2 = 581,654.\delta_{0,56} - 212,437.\delta_{2,11} - 319,460.\delta_{3,03} - 602,170.\delta_{3,98} + 627,283.\delta_{4,02} - 186,909$$

Onde, FD1 e FD2 são as funções discriminantes para classificar uma amostra nos grupos recidiva ou não de diabetes, respectivamente.

A Tabela 1 apresenta a matriz de classificação, após validação cruzada, para o diagnóstico de recidiva da diabetes.

Tabela 1 – Matriz de classificação do modelo metabonômico I (LDA, 5 variáveis, 33 amostras)

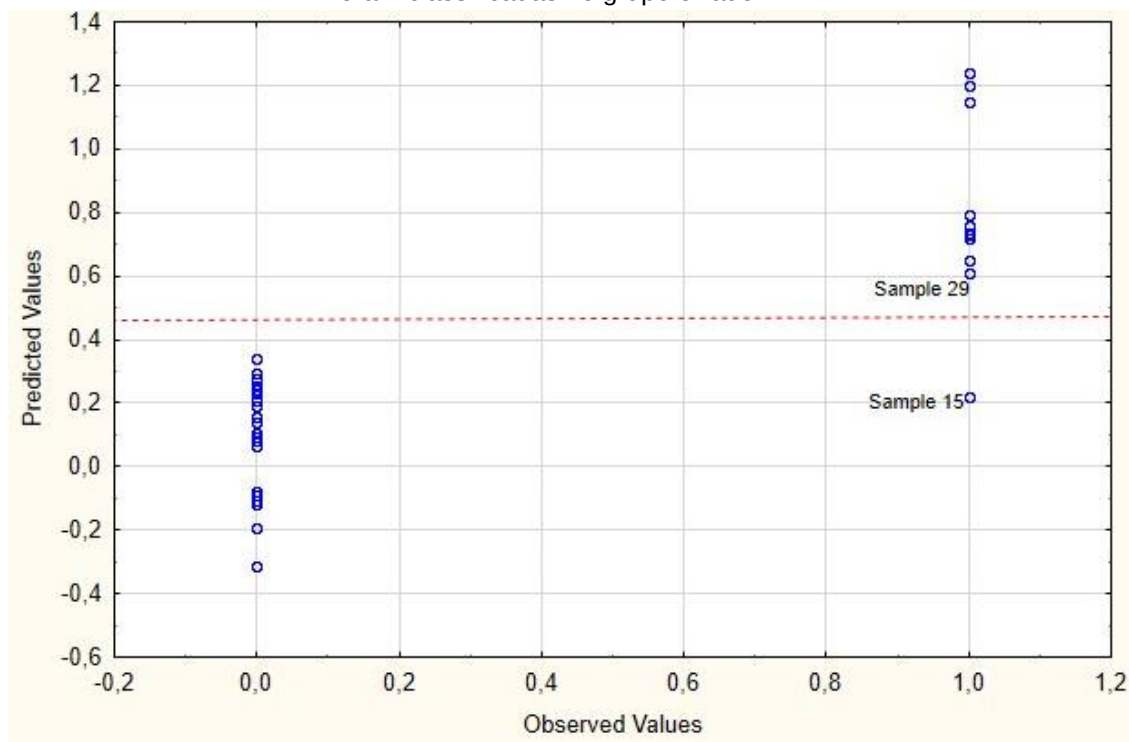
		Diagnóstico Clínico	
		Recidiva	Negativo
MM1	Recidiva	9	0
	Negativo	2	22

Fonte: Autora (2019)

O modelo apresentou uma acurácia de 93,9% (31/33), sensibilidade de 81,8%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 100% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 91,7%. Foi realizado o teste F de Fischer para investigar se o modelo tem significância estatística. Foram utilizados 5 e 27 graus de liberdade, resultando em $F_{5,27} = 12,48$ ($p < 0.001$).

A Figura 7 apresenta o gráfico de valores preditos pelo modelo metabonômico versus os valores observados para cada amostra (0 = Negativo; 1 = Recidiva).

Figura 7 – LDA - valores preditos versus valores observados. Em destaque, as amostras que foram classificadas no grupo errado.



Fonte: Autora (2019)

Na Validação Cruzada, o modelo errou a classificação das amostras 15 e 29.

O segundo modelo metabonômico foi construído para avaliação do reganho de peso. Foram selecionadas 05 variáveis para a construção do modelo, que resultou nas duas funções discriminantes apresentadas nas equações abaixo:

$$FD1 = 352,07. \delta_{1,07} - 1201,4. \delta_{1,71} + 628,37. \delta_{3,03} - 2356,81. \delta_{3,07} - 351,9. \delta_{3,54} - 486,19$$

$$FD2 = 415,84. \delta_{1,07} - 1301,59. \delta_{1,71} + 687,73. \delta_{3,03} - 2555,33. \delta_{3,07} - 370,97. \delta_{3,54} - 557,26$$

Onde, FD1 e FD2 são as funções discriminantes para classificar uma amostra nos grupos de reganho de peso ou não, respectivamente.

A Tabela 2 apresenta a matriz de classificação, após validação cruzada, para o diagnóstico de reganho.

Tabela 2 – Matriz de classificação do modelo metabonômico II (LDA, 5 variáveis, 33 amostras).

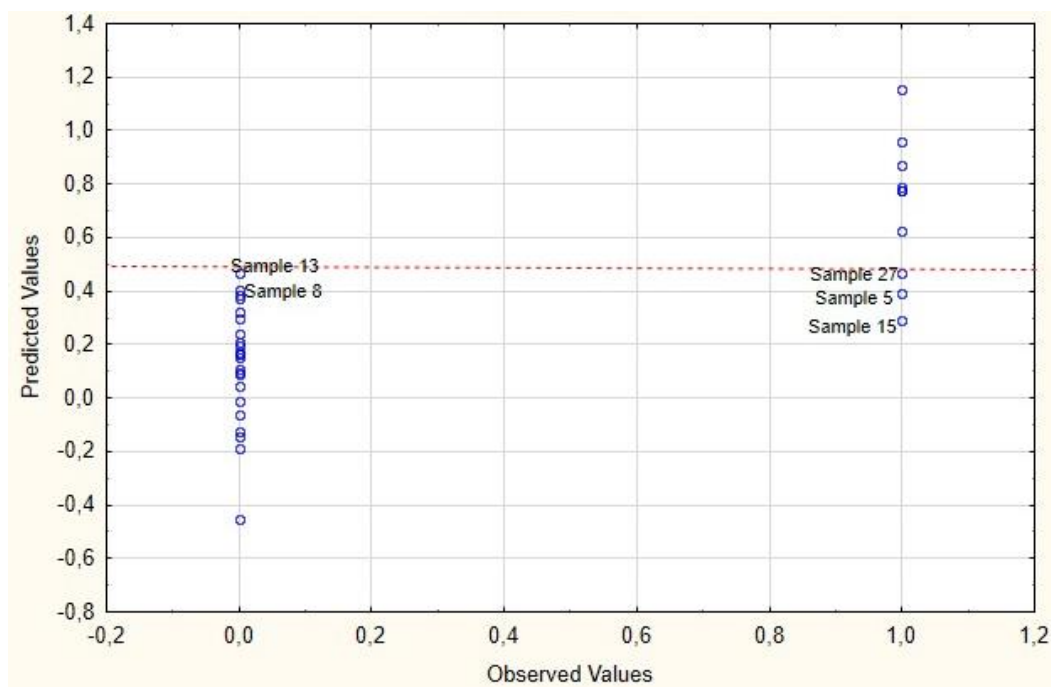
MM1		Diagnóstico Clínico	
		BIE	Controle
	BIE	7	2
	Controle	3	21

Fonte: Autora (2019)

O modelo apresentou uma acurácia de 84,8% (28/33), sensibilidade de 70,0%, especificidade de 91,3%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 77,8% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 87,5%. Foi realizado o teste F de Fischer para investigar se o modelo tem significância estatística. Foram utilizados 5 e 27 graus de liberdade, resultando em $F_{5,27} = 7,55$ ($p = 0,002$).

A Figura 8 apresenta o gráfico de valores preditos pelo modelo metabonômicos versus os valores observados para cada amostra (0 = Negativo; 1 = Reganho).

Figura 8 – Modelo metabonômico para discriminação das amostras de pacientes que apresentaram reganho de massa após cirurgia bariátrica. LDA - valores preditos versus valores observados. Em destaque, as amostras que foram classificadas no grupo errado.



Fonte: Autora (2019)

5 DISCUSSÃO

Há uma necessidade latente de identificar métodos que tenham valor prognóstico para remissão de diabetes em pacientes que serão submetidos a cirurgia bariátrica, como uma forma de triar aqueles pacientes que estarão curados ou não após a cirurgia.

É sabido que fatores como idade, tempo do diagnóstico de diabetes, sexo, índice de massa corporal, hemoglobina glicosilada A1c e valor do peptídeo C em jejum são fatores individuais de prognóstico para o tratamento da diabetes⁽⁵⁶⁾.

No entanto, há uma necessidade de busca de fatores independentes destes fatores prognósticos que sinalizem os pacientes que serão bons respondedores ou não da terapêutica proposta.

No atual cenário da cirurgia bariátrica e metabólica, há indicação do tratamento cirúrgico da síndrome metabólica, em pacientes com refratariedade ao tratamento clínico da diabetes, com IMC cada vez menores⁽⁷⁴⁾. Neste contexto, identificar um meio metabonômico, que avalie o espectro metabólico dos pacientes que serão bons respondedores ao tratamento cirúrgico proposto, é bastante pertinente.

Estudo anterior aponta que o impacto metabólico da cirurgia bariátrica poderia ser acessado via metabonômica, demonstrando os efeitos cirúrgicos sobre diversos componentes e vias bioquímicas do organismo, apesar de o exato mecanismo fisiopatológico não estar completamente elucidado⁽⁷⁵⁾.

A ferramenta que usamos em nosso estudo foi a ¹HRNM. Pois esta é uma das plataformas de análise metabonômica mais utilizadas nos estudos relacionados aos efeitos da cirurgia bariátrica, embora poucos. Alguns outros estudos, no entanto, utilizaram a espectrometria de massa, um método que permite a detecção, caracterização e quantificação de metabolitos de baixo peso molecular das mais variadas classes, como lipídios, aminoácidos, peptídeos, ácidos nucleicos, ácidos orgânicos, vitaminas e carboidratos.

Mesmo com a atual falta de consenso e a necessidade de maior investigação, alguns grupos de metabólitos se destacaram, mostrando maior importância no processo fisiopatológico⁽⁷⁵⁾. Um dos maiores grupos a sofrer alterações é o dos aminoácidos, os níveis de BCAA, por exemplo, foram correlacionados com resistência insulínica no pós-operatório^(75,76). Além dos aminoácidos, o metabolismo lipídico se mostrou alterado, principalmente relacionado aos níveis de ácidos graxos,

triglicerídeos, LDL, HDL^(75,77). Outro fator importante é a modulação da microbiota intestinal, bacteroides e firmicutes, cujos níveis no pós-operatório mostram ligação com a perda de peso e remissão DM2^(75,78).

Em pacientes diabéticos, acredita-se que a remissão da DM2 ocorra independentemente da perda de peso⁽⁷⁹⁾, e as aplicações recentes da metabonômica nessa área possibilitaram a descoberta de marcadores de fisiopatologia, prognóstico e fatores de risco da doença⁽⁸⁰⁾.

Nesses casos, perfil metabólico por ¹H RNM mostrou alterações no metabolismo basal associadas à homeostase energética após cirurgia bariátrica, com diminuição da glicose e aumento de acetato e lactato, diminuição de BCAA e alterações no metabolismo lipídico^(81,82).

No nosso estudo, pudemos observar que a remissão da DM2 ocorreu independente. Mesmo em pacientes com reganho de peso, houve remissão da diabetes durante o prazo do acompanhamento.

Pelas limitações do seguimento a longo dos pacientes pela perda de seguimento foi optada pela análise estritamente pós-operatória, o que limita a avaliação como estudo para prognóstico.

O modelo para avaliar remissão da diabetes apresentou uma acurácia de 93,9% (31/33), sensibilidade de 81,8%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 100% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 91,7%. Foi realizado o teste F de Fischer para investigar se o modelo tem significância estatística. Foram utilizados 5 e 27 graus de liberdade, resultando em $F_{5,27} = 12,48$ ($p < 0.001$).

Não foi possível identificar explicação clínica para os dois pacientes que apresentaram recidiva da diabetes, porém não foram incluídos nos modelos metabonômicos de ausência de recidiva. Uma possível explicação é que sejam *outliers*.

Além disso, é preciso investigar as regiões espectrais importantes para a discriminação, visando identificar os metabólitos. No entanto, o número de amostras ainda é muito reduzido no grupo positivo (recidiva de diabetes), considerando que temos 11 amostras e cinco desses também apresentaram reganho de massa.

No que pese ter uma relação entre os dois (recidiva de diabetes e reganho de massa), o fato de termos uma distribuição dessa forma torna mandatório aumentar o número de indivíduos nesse grupo para validar ainda mais o modelo como prognóstico, assim como comparar os perfis no pré e no pós-operatório.

Em relação aos resultados encontrados quanto a avaliação metabonômica para reganho de peso, a distribuição das amostras para o Modelo I são válidas para o Modelo II. Identificamos que há mais erros de classificação, sugerindo que o modelo é mais sensível a essa distribuição.

Nesse sentido, a investigação de possíveis metabólitos associados às discriminações observadas devem ter início apenas quando esses vieses na distribuição das amostras forem corrigidos, aumentando por exemplo, o número de pacientes avaliados.

Como perspectiva, pode-se inferir que a estratégia metabonômica seja método promissor de avaliação prognóstica de recidiva da diabetes e reganho de peso após cirurgia bariátrica em amostras de sangue de pacientes submetidos ao procedimento com finalidade de controle metabólico. Os resultados encontrados no estudo encorajam a continuidade deste projeto, após as correções metodológicas necessárias, além de nortear a expansão desta linha de pesquisa.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos com a metodologia utilizada, conclui-se que:

O modelo metabonômico para avaliação de remissão ou recidiva de diabetes após cirurgia bariátrica mostrou-se eficaz e promissor como método de avaliação prognóstica.

REFERÊNCIAS

1. MISRA, A.; KHURANA, L. Obesity and the metabolic syndrome in developing countries. *J Clin Endocrinol Metabol*, v.93, suppl. 1, p.S9-30, 2008.
2. IBRAHIM, M. M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev*, v.11, n.1, p.11-18, 2010.
3. BERGMAN, R. N. et al. A better index of body adiposity. *Obesity*, 2011;19(1): 1083-9.
4. KUMMITHA, C. M. et al. Relating tissue / organ energy expenditure to metabolic fluxes in mouse and human: experimental data integrated with mathematical modeling. *Physiol Rep*, v.2, n.9, p.e12159, 2014.
5. ASHRAF, H. et al. Evaluation of proinflammatory cytokines in obesities vs non-obese patients with metabolic syndrome. *Indian J Endocrinol Metab*, v.22, n.5, p.751-756, 2018.
6. OHKURA, T. et al. Srebp1c regulates high fat diet-induced adipose tissue inflammation, and metabolic abnormalities in mice. *Front Immunol*, v.22, n.10, p.17-20 2019.
7. BROWN, J. C. et al. The value of anthropometric measures in nutrition and metabolism: comment on anthropometrically predicted visceral adipose tissue and blood-based biomarkers: a cross-sectional analysis. *Nutr Metabol Insig*, v.12, n.2, p.1-7, 2019.
8. ZHANG, H. et al. Human Gut Microbiota in Obesity and after Gastric Bypass. *Proc Natl Acad Sci*, v.106, n.1, p. 2365-2370, 2009.
9. POURNARAS, D. J. et al. Remission of type 2 diabetes after gastric bypass and banding mechanisms and 2 year outcomes. *Ann Surg*, v.252, n.1, p.966-971, 2010.
10. LEBOVITZ, H. E. Metabolic Surgery for Type 2 Diabetes with BMI < 35 kg/m². *Obes Surg*, v.23, n.1, p.800-808, 2013.
11. LENT-SCHOCHET, D. et al. Exploratory metabolomics of metabolic syndrome: A status report. *World J Diabetes*, v.10, n.1, p.23-36, 2019.
12. NTZOUVANI, A. et al. Amino acid profile and metabolic syndrome in a male Mediterranean population: A cross-sectional study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, v.27, n.1, p.1021-1030, 2017.

-
13. SHIMOBAYASHI, M. et al. Insulin resistance causes inflammation in adipose tissue. *J Clin Invest*, v.128, n.4, p.1538-1550, 2018.
 14. REMÍGIO, M. I. et al. The impact of bariatric surgery on cardiopulmonary Function: analyzing VO₂ Recovery kinetics. *Obes Surg*, v.28, n.12, p.4039-4044, 2018.
 15. DE SIQUEIRA, L. T. et al. A screening study of potential carcinogen biomarkers after surgical treatment of obesity. *Obes Surg*, v.28, n.8, p.2487-2493, 2018.
 16. SJÖSTRÖM, L. et al. Association of bariatric surgery with long-term remission of type 2 diabetes and with microvascular and macrovascular complications. *JAMA*, v.311, n.22, p.2297-2304, 2014.
 17. COURCOULAS, A. P. et al. Surgical vs medical treatments for type 2 diabetes mellitus: a randomized clinical trial. *JAMA Surg*, v.149, n.7, p.707-715, 2014.
 18. WIJAYATUNGA, N. N. et al. Roux-en-Y gastric bypass surgery alters serum metabolites and fatty acids in patients with morbid obesity. *Diabetes Metab Res Rev*, v.34, n.8, p.e3045, 2018.
 19. ZHANG, A.; SUN, H.; WANG, X. Emerging role and recent applications of metabolomics biomarkers in obesity disease research. *RSC Adv*, v.7, n.25, p.14966-14973, 2017.
 20. NEWGARD, C. B. Metabolomics and metabolic diseases: where do we stand? *Cell Metab*, v.25, n.1, p.43-56, 2017.
 21. NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C.; HOLMES, E. Metabonomics II: Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica*, v.29, n.1, p.1181-1189, 1999.
 22. LINDON, J.C.; HOLMES, E.; NICHOLSON, J. K. Peer reviewed: so what's the deal with metabonomics? *Anal Chem*, v.75, n.1, p.384A-391A, 2003.
 23. GAO, H. et al. Application of ¹H NMR-Based metabonomics in the study of metabolic profiling of human hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis. *Cancer, Sci*, v.100, n.4, p.782-785, 2009.
 24. Brasil. Ministério da Saúde. *Tabela de procedimentos SUS*. 2016. Disponível em: <<http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/inicio.jsp>> Acesso em: 20 mar. 2019.
 25. Brasil. Agência Nacional de Saúde Suplementar. *Rol de procedimentos e eventos em saúde 2016* [recurso eletrônico]. Agência Nacional de Saúde Suplementar. – Rio de Janeiro: ANS, 2016.

-
26. ROCHA, V. Z.; LIBBY, P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*, v.6, n.6, p.399-409, 2009.
 27. SHUSTER, A. et al. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br J Radiol*, v.85, n.1, p.1-10, 2012.
 28. GOH, L. G. H. et al. Anthropometric measurements of general and central obesity and the prediction of cardiovascular disease risk in women: a cross-sectional study. *BMJ Open*, v. 4:e004138, 2014.
 29. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Obesity and overweight*. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 16 fev 2019.
 30. NG, M. et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*, v.384, n.9945, p.766-781, 2014.
 31. GLOBAL. Regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2013. *Lancet*, v.385, n.1, p.117-121, 2015.
 32. FAN, J. G.; KIM, S. U.; WONG, V. W. New trends on obesity and NAFLD in Asia. *J Hepatol*, v.67, n.4, p.862-873, 2017.
 33. MCKINSEY GLOBAL INSTITUTE. *Overcoming obesity: An initial economic analysis*. London: McKinsey & Company, 2014. 106 p.
 34. BARANOWISK, T.; CERIN, E.; BARANOWISK, J. Steps in the design, development and formative evaluation of obesity prevention-related behavior change trials. *Inter J Beh Nutr Phys Act*, v.21, n.6, p.6-9, 2009.
 35. Brasil. *Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sócio demográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2012*, Brasília: Ministério da Saúde; 2012.
 36. Brasil. *Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Vigitel Brasil 2014: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico*. Brasília: Ministério da Saúde; 2015.

-
37. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares, 2008-2009 (POF): antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro; 2010.
 38. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. Rio de Janeiro: IBGE;, 2014.
 39. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity and overweight. Secondary obesity and overweight, 2012. Available in: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Access in: 15 Mai 2019.
 40. NCEP. National Cholesterol Education Program. *Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III)*. JAMA, v.285, n.1, p.2486-2497, 2001.
 41. MARCHESINI, G. et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*, v.37, n.1, p. 917-923, 2003.
 42. STEPANOVA, M. et al. Components of metabolic syndrome and the rising prevalence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in the United States. *Gastroenterology*, v.140, sup. 1, p. S988-S, 2011.
 43. ALBERTI, K. G. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; national heart, lung, and blood institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, v.120, n.16, p.1640-1645, 2009.
 44. CHAPUT, J. P. et al. Workplace standing time and the incidence of obesity and type 2 diabetes: a longitudinal study in adults. *BMC Public Health*, v.15, n.2, p.111-117, 2015.
 45. ABULMEATY, M. M. A. et al. Anthropometric and central obesity indices as predictors of long-term cardiometabolic risk among Saudi young and middle-aged men and women. *Saudi Med J*, v.38, n.4, p.372-380, 2017.
 46. HENEGHAN, H. M. Effects of bariatric surgery on diabetic nephropathy after 5 years of follow-up. *Surg Obes Relat Dis*, v.9, n.1, p.7-14, 2013.
 47. LEBOVITZ, H. Metabolic Surgery for Type 2 Diabetes: Appraisal of clinical evidence and review of randomized controlled clinical trials comparing surgery with medical therapy. *Curr Atheroscler Rep*, v.15, n.1, p.1-6, 2013.

-
48. IKRAMUDDIN, S. et al. Roux-En-Y gastric bypass vs intensive medical management for the control of type 2 diabetes, hypertension, and hyperlipidemia: the diabetes surgery study randomized clinical trial. *JAMA*, v.309, n.21, p. 2240, 2013.
 49. BUCHWALD, H. Bariatric Surgery: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*, v.292, n.14, p.1724-1737, 2004.
 50. RUBINO, F. et al. Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: clinical outcomes and mechanisms of action. *Annu Rev Med*, v.61, n.1, p.393-411, 2010.
 51. LEE, W. J. et al. Gastrointestinal metabolic surgery for the treatment of diabetic patients: a multi-institutional international study. *J Gastrointest Surg*, v.16, n.1, p.45-51, 2012.
 52. RUBINO, F. et al. The early effect of the Roux-en-Y gastric bypass on hormones involved in body weight regulation and glucose metabolism. *Ann Surg*, v. 240, n.2, p.236-242, 2004.
 53. KASHYAP, S. R. et al. Acute effects of gastric bypass versus gastric restrictive surgery on beta-cell function and insulinotropic hormones in severely obese patients with type 2 diabetes. *Int J Obes*, v.34, n.3, p.462-471, 2010.
 54. SCHAUER, P. R. et al. Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes. *N Engl J Med*, v.366, n.4, p.1567-76, 2012.
 55. LEOVITZ, H. E. Science, clinical outcomes and the popularization of diabetes surgery. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, v.19, n.5, p.359-366, 2012.
 56. YU, Y. et al Predictors of weight regain after sleeve gastrectomy: an integrative review. *Surg Obes Relat Dis*, v.15, n.6, p. 1-11, 2019.
 57. ROLIM, F. F. A. et al. Long-term repercussions of Roux-em-Y gastric by-pass in a low-income population: assessment ten years after surgery. *Rev Col Bras Cir*, v.45, n.4, p.e1916, 2018.
 58. GREENWAY, F. L. Physiological adaptations to weight loss and factors favouring weight regain. *Int J Obes*, v.39, n.8, p.1188-1196, 2015.
 59. SHANTAVASINKUL, P. C. et al. Predictors of weight regain in patients who underwent Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Surg Obes Relat Dis*, v.12, n.9, p.1640-1645, 2016.
 60. MALECKAS, A. et al. Weight regain after gastric bypass: etiology and treatment options. *Gland Surg*, v.5, n.6, p.617-624, 2016.

-
61. LAUTI, M. et al. Weight regain following sleeve gastrectomy-a systematic review. *Obes Surg*, v.26, n.6, p.1326-1334, 2016.
 62. LAUTI, M. et al. Definition determines weight regain outcomes after sleeve gastrectomy. *Surg Obes Relat Dis*, v.13, n.7, p.1123-1129, 2017.
 63. GENSER, L.; BARRAT, C. Long term outcomes after bariatric and metabolic surgery. *Presse Med*, v.47, n.5, p.471-479, 2018.
 64. MOURA, D. T. H.; MOURA, E. G. H.; THOMPSON, C. C. Endoscopic sleeve gastroplasty: from whence we came and where we are going. *World J Gastrointest Endosc*, v.11, n.5, p. 322-328, 2019.
 65. KARMAI, S. et al. Weight recidivism post-bariatric surgery: a systematic review. *Obes Surg*, v.23, n.11, p.1922-1933, 2013.
 66. MAGRO, D. O. et al. Long-term weight regain after gastric bypass: a 5-year prospective study. *Obes Surg*, v.18, n.6, p.648-51, 2008.
 67. CHRISTOU, N. V.; LOOK, D.; MACLEAN, L. D. Weight gain after short- and long-limb gastric bypass in patients followed for longer than 10 years. *Ann Surg*, v.244, n.5, p.734-740 2006.
 68. PRACHAND, V.; DAVEE, R.; ALVERDY, J. Duodenal switch provides superior weight loss in the super-obese (BMI > 50 kg/m²) compared with gastric bypass. *Ann Surg*, v.244, n.4, p.611-619, 2006.
 69. NICHOLSON, J. K. et al. Metabonomics: a platform for studying drug toxicity and gene function. *Nat Rev Drug Discov*, v.1, n.2, p;153-161, 2002.
 70. DUNN, W. B.; ELLIS, D. I. Metabolomics: Current analytical platforms and methodologies. *Trends in Analytical Chemistry*, v.24, n.4, p.285-294, 2005.
 71. NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C. Systems biology: Metabonomics. *Nature*, v.455, n.7216, p.1054-1056, 2008.
 72. ZHANG, S. et al. Advances in NMR-based biofluid analysis and metabolite profiling. *Analyst*, v.135, n.7, p.1490-1498, 2010.
 73. LENZ, E. M.; WILSON, I. D. Analytical Strategies in Metabonomics. *J Proteome Res*, v.6, n.2, p.443-458, 2007.
 74. FERRAZ, Á. A. B. et al. Roux-em-Y gastric bypass for nonobese patients with uncontrolled type 2 diabetes: a long-term evaluation. *Surg Obes Relat Dis*, v.15, n.5, p.682-687, 2019.
 75. GALLAGHER, F. A. An introduction to functional and molecular imaging with MRI. *Clin Radiol*, v.65, n.7, p.557-566, 2010.

-
76. KEUN, H. C. Metabonomic modeling of drug toxicity. *Pharmacol Ther*, v.109, n.1-2, p.92-106, 2006.
 77. WOLAHAN, S. M.; HIRT, D.; GLENN, T. C. Translational metabolomics of head injury: exploring dysfunctional cerebral metabolism with ex vivo NMR spectroscopy-based metabolite quantification. In: Kobeissy, F. H. editor. *Brain Neurotrauma*. 1st ed. EUA: CRC Press. 2015.
 78. CONSTANTINO, M. G. et al. Simulação de desdobramentos complexos de espectros de RMN de ^1H . 2006. p. 160-7.
 79. COLNAGO, L. A.; ALMEIDA, F. C.L.; VALENTE, A. P. Espectrometria de Massa e RNM Multidimensional e Multinuclear. *Atualidades em Química*, 2002. p. 9-14.
 80. LOPES, T. I. B. et al. Prospective monitoring of bariatric surgery: Roux-en-Y gastric bypass outcomes using mixed-meal tolerance test and time-resolved ^1H NMR-Based Metabolomics. *Omi A J Integr Biol*, v.20, n.7, p.415-423, 2016.
 81. LOPES, T. I. B. et al. Blood Metabolome Changes Before and After Bariatric Surgery: A ^1H NMR-Based Clinical Investigation. *Omi A J Integr Biol*, v.19, n.5, p.318-327, 2019.
 82. KWON, H. N. et al. Prediction of glycated hemoglobin levels at 3 months after metabolic surgery based on the 7-day plasma metabolic profile. *PLoS One*, v.9, n.11, p.e109609, 2014.

APÊNDICE A - VERSÃO DO MANUSCRITO PARA REVISTA

**MODELO METABONÔMICO PARA AVALIAÇÃO DA REGRESSÃO DO
DIABETES MELLITUS TIPO II APÓS CIRURGIA BARIÁTRICA ***

*Metabonomic model for the assessment of type 2 diabetes remission after
bariatric/metabolic surgery*

Clarissa Guedes Noronha¹, Ricardo Oliveira da Silva², Luciana Teixeira de Siqueira³,
Fernando de Santa Cruz Oliveira⁴, Álvaro Antônio Bandeira Ferraz⁵

*Serviço de Cirurgia Geral do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de
Pernambuco

¹Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da UFPE, ²Professor
Titular do Departamento de Química da UFPE, ³Professora Adjunta de Cirurgia do
Centro de Ciências Médicas da UFPE, ⁴Bolsista de Iniciação Científica – CNPq-PE,
⁵Professor Titular de Cirurgia do Centro de Ciências Médicas da UFPE

Conflito de interesse: nenhum

Financiamento: nenhum

RESUMO

Introdução: Atualmente, a cirurgia bariátrica é considerada o tratamento mais eficaz para perda de peso em pacientes com obesidade severa. Contudo, é desafiador o entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na perda de peso e nos benefícios metabólicos, especialmente a remissão do diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Estudos têm mostrado que até 30% dos pacientes submetidos a cirurgia bariátrica/metabólica apresentarão recorrência da DM2, além dos 45% que apresentarão reganho de peso. Neste estudo, avaliamos as diferenças entre os perfis metabonômicos no plasma de pacientes que apresentarão remissão de DM2 e aqueles que não apresentaram remissão após cirurgia bariátrica/metabólica, buscando encontrar um fator preditivo para o sucesso desta cirurgia. **Objetivo:** Analisar a utilização de modelo metabonômico para avaliação da remissão do DM2 após cirurgia bariátrica/metabólica. **Métodos:** Participaram do estudo 33 pacientes obesos diabéticos tipo 2, dos quais 22 tiveram remissão completa da DM2 e 11 tiveram recidiva da DM2 ou não apresentaram remissão da doença no pós-operatório. Amostras de sangue foram coletadas para avaliação dos perfis metabonômicos séricos através de um estudo metabonômico baseado em RMN de ^1H . **Resultados:** O modelo metabonômico para avaliação da recidiva da diabetes apresentou uma acurácia de 93,9%, sensibilidade de 81,8%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 100% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 91,7%. **Conclusão:** O modelo metabonômico para avaliação de remissão ou recidiva de diabetes após cirurgia bariátrica mostrou-se uma ferramenta eficaz e promissora para determinar o prognóstico desses pacientes.

Palavras-chave: Obesidade. Cirurgia bariátrica. Reganho de peso. Diabetes mellitus. Bypass gástrico. Sleeve gástrico. Síndrome metabólica.

ABSTRACT

Introduction: Currently, bariatric surgery is the most effective treatment for weight loss in severely obese patients. However, it is challenging to elucidate the molecular mechanisms involved in this weight loss and also in the metabolic improvements, especially type 2 diabetes (T2D) remission. Studies show that up to 30% of those patients who have undergone bariatric/metabolic surgery will experience T2D recurrence, besides those 45% that will experience weight regain. In the current study we evaluated the differences between the metabonomic profile in the serum of patients who have experienced T2D remission and those who did not after bariatric/metabolic surgery, aiming to find a predictive factor for the success of this surgery. **Purpose:** To analyze a metabonomic model to evaluate T2D remission after bariatric/metabolic surgery. **Methods:** Thirty-three patients with obesity and T2D were submitted to bariatric/metabolic surgery, among which, 22 experienced complete remission of T2D, and 11 did not experience remission in the postoperative period. Blood samples were taken in order to assess the serum profiles through a ^1H NMR-based metabonomic study. **Results:** The metabonomic model for the assessment of T2D recurrence presented an accuracy of 93.9%, sensibility of 81.8%, specificity of 100%, positive predictive value of 100% and a negative predictive value of 91.7%. **Conclusion:** The metabonomic model to assess remission or recurrence of T2D after bariatric surgery has shown to be an effective and promising tool to establish the prognosis of this patients.

Keywords: Obesity. Bariatric surgery. Weight regain. Diabetes mellitus. Gastric bypass. Sleeve gastrectomy. Metabolic syndrome.

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo crônico e excessivo de tecido adiposo devido ao desequilíbrio duradouro entre ingestão e gasto energético, resultando frequentemente em sérios prejuízos à saúde, como doenças genéticas, alterações da atividade metabólica e endócrina ou por alterações nutricionais⁽¹⁻⁶⁾. O recente aumento da popularidade aponta a obesidade como um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo com uma estimativa de que haja, em 2025, aproximadamente 2,3 bilhões de adultos em sobrepeso e mais de 700 milhões de obesos⁽²⁾.

Pesquisadores demonstram que uma perda de peso equivalente por dieta, comparado à cirurgia bariátrica, promove menos benefícios no controle dos níveis glicêmicos. Inclusive, após a cirurgia, a remissão da diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) pode ser observada independente da perda de massa⁽⁷⁻¹⁰⁾. A terapia cirúrgica fornece o único tratamento viável para obesidade grave com perda de excesso de peso, resolução e melhora das comorbidades. As atuais cirurgias metabólicas bariátricas resultam em perdas de peso significativas e duradouras, bem como em importantes alterações metabólicas⁽⁸⁻¹¹⁾. O tratamento cirúrgico da obesidade mostra-se superior em relação ao tratamento medicamentoso no controle da glicemia, assim como os resultados alcançados com a cirurgia bariátrica podem retardar ou diminuir a progressão da nefropatia diabética^(12,13).

É um desafio para a comunidade acadêmica entender os mecanismos moleculares envolvidos na diminuição de massa nos pacientes submetidos à cirurgia bariátrica, bem como os benefícios metabólicos e a forte associação com a cura do diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). Neste estudo, nós admitimos a hipótese que ao encontrarmos as diferenças de perfis metabonômicos no plasma de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica com e sem remissão de DMT2, poderemos prever quem responderá a cirurgia com cura ou controle parcial da doença, podendo esta funcionar como indicação terapêutica.

Quadro 1. Estudos metabonômico por ^1H RNM em pacientes obesos submetidos a cirurgia bariátrica.

Autor	Técnica Metabonômica	Grupo Observado	Tempo	Resultados principais
Lopes et al. ⁽¹⁴⁾ 2016	^1H RNM	10 pacientes com obesidade e DM2	Pré e 12 meses pós-op	Abordagem metabolômica baseada no tempo de RMN- ^1H . Mais rápida absorção de glicose no pós-op.; decréscimo nos níveis de lactato e BCAA. Aumento de valina, isoleucina e leucina.
Lopes et al. ⁽¹⁵⁾ 2015	^1H RNM	10 pacientes com obesidade e DM2	Pré e 12 meses pós-op.	Maiores níveis de leucina, isoleucina, valina, treonina, lactato e glicose no pré-operatório. Acetato, glutamina/ glutamato, metilamina, dimetilamina, O-acetil-carnitina e carnitina maiores no pós-operatório.
Kwon et al. ⁽¹⁶⁾ 2014	^1H RNM	22 pacientes com obesidade e DM2	7 dias, e nova avaliação nos 3 meses pós-operatório.	Assinaturas metabólicas do pós-operatório mais precoce (7 dias) podem estar correlacionadas com o controle glicêmico aos 3 meses após a cirurgia, via HbA1c. Com base nos níveis de 3-HB, glicose e HbA1c.

BCAA – Aminoácidos de cadeia ramificada; HbA1c-Hemoglobina glicada; 3-HB – Ácido beta hidroxibutírico; DM2 – Diabetes Mellitus tipo 2; ^1H RNM – Ressonância Nuclear Magnética de hidrogênio

A viabilidade econômica, embora ainda difícil na prática clínica atual, é bastante promissora, uma vez que os novos aparelhos de RNM estão vindo acoplados de módulos de RMS, mostrando que possivelmente no futuro poderão ser adquiridos espectros de boa qualidade durante exames de imagens convencionais sem a necessidade de grande acréscimo financeiro.

No momento, o exame de RNM de crânio acoplado com espectometria é realizado para investigação neurológica e possui custo estimado de R\$ 268,75, conforme a tabela do Sistema único de Saúde (SUS)⁽¹⁷⁾ e já consta no rol de procedimentos da Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS)⁽¹⁸⁾. Estima-se que a utilização da RNM na avaliação de pacientes diabéticos obesos candidatos ao tratamento cirúrgico não tenha um valor muito diferente.

Não obstante, este estudo limita-se a investigação da viabilidade clínica da estratégia metabonômica e, não propriamente, da identificação de um biomarcador. Em tempo, espera-se no futuro, poder elucidar o uso de biomarcadores pela estratégia metabonômica por RNM como uma ferramenta útil para avaliar o prognóstico da remissão da diabetes após a cirurgia bariátrica.

Analisar a utilização de modelo metabonômico para avaliação da regressão do diabetes mellitus tipo II após cirurgia bariátrica. Da mesma forma, construir modelos metabonômicos baseados em RMN de ^1H , visando discriminar pacientes que tiveram reganho de massa pós-cirurgia bariátrica dos que não tiveram.

MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no ambulatório de Cirurgia Geral do Hospital das Clínicas e no Laboratório Central Analítica do Departamento de Química Fundamental – UFPE. O estudo foi do tipo transversal observacional em pacientes diabéticos que foram submetidos à cirurgia bariátrica.

Participaram do estudo 33 pacientes obesos diabéticos tipo 2 (a) que realizaram cirurgia bariátrica e tiveram remissão completa da mellitus tipo 2 e (b) pacientes que realizaram cirurgia bariátrica que tiveram recidiva da diabetes mellitus tipo II ou não tiveram remissão da doença no pós-operatório (Quadro 2). Todos os participantes da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). As amostras de sangue foram coletadas no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFPE, onde foram realizadas todas as determinações de rotina. Amostras de soro de cada paciente foram encaminhadas à Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE para a obtenção dos espectros de RMN de ^1H .

Foram constituídos dois universos de pesquisa, cada qual contendo dois grupos, sendo: (1) Investigação da regressão da diabetes mellitus 2 pós-cirurgia bariátrica.

- Grupo I: Pacientes que apresentaram regressão do quadro de diabetes mellitus após intervenção cirúrgica;
- Grupo II: Pacientes que não apresentaram regressão do quadro de diabetes mellitus após intervenção cirúrgica.

O segundo grupo consiste em (2) Investigação do reganho de peso pós-cirurgia bariátrica.

- Grupo I: Pacientes que não apresentaram reganho de peso após intervenção cirúrgica;
- Grupo II: Pacientes que apresentaram reganho de peso após intervenção cirúrgica.

Foram criados 02 modelos metabonômicos, usando o formalismo LDA (*Linear Discriminants Analysis*), como segue: Modelo 1 – Diabetes mellitus tipo 2 pós-cirurgia bariátrica (11 positivos versus 22 negativos); e Modelo 2 – Reganho de massa pós-cirurgia bariátrica (10 positivos versus 23 negativos). Todos os modelos foram validados por LOOCV (*Leave-One-Out Cross Validation*), sendo os valores de acurácia, sensibilidade, especificidade, VPN e VPN extraídos da matriz de classificação após validação cruzada.

O método de validação cruzada, dispensa um grupo de teste, diminuindo o número de análises.

As amostras foram preparadas usando 400 μL do soro de sangue e 200 μL de água deuterada. Os espectros de RMN de ^1H foram obtidos usando um espectrômetro de RMN de 9,0 T, operando a 400 MHz para o núcleo de ^1H . A sequência de pulsos HPRESAT, que faz supressão do sinal da água, e, em seguida, a CPMG foi utilizada para a obtenção dos espectros, usando os seguintes parâmetros: janela espectral de 4.807 Hz, tempo de aquisição igual a 1,704 s, tempo de espera igual a 2 s, pulsos de RF de 90° igual a 13.200 e 128 repetições. Os espectros foram processados com *linebroadening* igual a 0,3 Hz e dividido em regiões iguais a 0,04 ppm, no intervalo compreendido entre δ 0,0 a 4,5 ppm. Foi excluída a região após δ 4,5 ppm. As linhas de base e as fases dos espectros foram corrigidas manualmente.

Cada espectro foi processados com *linebroadening* igual a 0,3 Hz e divididos em regiões de mesma largura iguais a 0,04 ppm (bins), no intervalo compreendido entre δ 0 a 4,5 ppm, dando um total de 113 bins, utilizando o Software MestReNova 12.0. Foram excluídas as regiões após 4,5 ppm, que contém o sinal da água.

As linhas de base foram corrigidas automaticamente pelo método de Polinômio de Bernstein e as fases dos espectros foram corrigidas manualmente. A Figura 1 abaixo exemplifica como ficaram os espectros após esses processamentos manuais.

Uma matriz foi construída com os dados destes bins, onde os bins de cada amostra são convertidos em uma matriz linha (cada linha na matriz representa uma amostra, ou seja, um espectro), na qual os elementos são preenchidos com a integral

do bin correspondente a cada coluna (variáveis), resultando em uma matriz com 34 linhas (33 das amostras mais a linha de classificação) e 166 variáveis (113 dos bins mais as variáveis de classe), que foi submetida ao tratamento quimiométrico de análise estatística multivariada (Figura 2).

A matriz de dados foi preprocessada usando a normalização pela soma (Standard Normal Variate - SNV) na linha (Figura 3) para realização do formalismo LDA, segundo a Equação 1 abaixo. Este processamento tem como finalidade minimizar qualquer tipo de erro, tais como variação na concentração, erro associado ao analista, etc. O pré-processamento impede que amostras com erros sistemáticos associados possam ter uma maior relevância na construção do modelo, sem alterar a informação contida na variável, para que, assim, as amostras possam ser comparadas entre si. Para construção do modelo, utilizou-se escores de cinco componentes principais, escolhidas pelo método de seleção de variáveis Lambda de Wilks.

$$x = \frac{(x_i - \bar{x})}{s} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde x é a intensidade do sinal num determinado deslocamento químico, x_i é a intensidade no espectro original (ou seja, a área de integração da variável i), $\bar{x}$ é a média de x para aquela amostra e s é o desvio-padrão de x na amostra.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE para análise e aprovação, como também seguiu os princípios que regem o Código de Ética Médica e as normas vigentes da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) criada pela resolução do Conselho Nacional de Saúde de número 466/12 e seguindo os princípios da declaração de Helsinque para pesquisa em Humanos. Avaliação ambulatorial dos pacientes que foram convidados a participar do estudo e a inclusão do mesmo somente foi permitida, através de assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (APÊNDICE B).

RESULTADOS

No modelo I, para avaliação da recidiva da diabetes, foram selecionadas 05 variáveis para a construção do modelo, que resultou nas duas funções discriminantes apresentadas nas equações abaixo:

$$FD1 = -699,999.\delta_{0,56} - 257,116.\delta_{2,11} - 378,566.\delta_{3,03} - 703,369.\delta_{3,98} + 778,530.\delta_{4,02} - 247,463$$

$$FD2 = 581,654.\delta_{0,56} - 212,437.\delta_{2,11} - 319,460.\delta_{3,03} - 602,170.\delta_{3,98} + 627,283.\delta_{4,02} - 186,909$$

Onde, FD1 e FD2 são as funções discriminantes para classificar uma amostra nos grupos recidiva ou não de diabetes, respectivamente.

A Tabela 1 apresenta a matriz de classificação, após validação cruzada, para o diagnóstico de recidiva da diabetes.

O modelo apresentou uma acurácia de 93,9% (31/33), sensibilidade de 81,8%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 100% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 91,7%. Foi realizado o teste F de Fischer para investigar se o modelo tem significância estatística. Foram utilizados 5 e 27 graus de liberdade, resultando em $F_{5,27} = 12,48$ ($p < 0.001$).

A Figura 4 apresenta o gráfico de valores preditos pelo modelo metabonômico versus os valores observados para cada amostra (0 = Negativo; 1 = Recidiva).

. Em destaque, as amostras que foram classificadas no grupo errado.

Na Validação Cruzada, o modelo errou a classificação das amostras 15 e 29.

O segundo modelo metabonômico foi construído para avaliação do reganho de peso. Foram selecionadas 05 variáveis para a construção do modelo, que resultou nas duas funções discriminantes apresentadas nas equações abaixo:

$$FD1 = 352,07.\delta_{1,07} - 1201,4.\delta_{1,71} + 628,37.\delta_{3,03} - 2356,81.\delta_{3,07} - 351,9.\delta_{3,54} - 486,19$$

$$FD2 = 415,84.\delta_{1,07} - 1301,59.\delta_{1,71} + 687,73.\delta_{3,03} - 2555,33.\delta_{3,07} - 370,97.\delta_{3,54} - 557,26$$

Onde, FD1 e FD2 são as funções discriminantes para classificar uma amostra nos grupos de reganho de peso ou não, respectivamente.

A Tabela 2 apresenta a matriz de classificação, após validação cruzada, para o diagnóstico de reganho.

O modelo apresentou uma acurácia de 84,8% (28/33), sensibilidade de 70,0%, especificidade de 91,3%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 77,8% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 87,5%. Foi realizado o teste F de Fischer para investigar se o modelo tem significância estatística. Foram utilizados 5 e 27 graus de liberdade, resultando em $F_{5,27} = 7,55$ ($p = 0,002$).

A Figura 5 apresenta o gráfico de valores preditos pelo modelo metabonômicos versus os valores observados para cada amostra (0 = Negativo; 1 = Reganho).

DISCUSSÃO

Há uma necessidade latente de identificar métodos que tenham valor prognóstico para remissão de diabetes em pacientes que serão submetidos a cirurgia bariátrica, como uma forma de triar aqueles pacientes que estarão curados ou não após a cirurgia.

É sabido que fatores como idade, tempo do diagnóstico de diabetes, sexo, índice de massa corporal, hemoglobina glicosilada A1c e valor do peptídeo C em jejum são fatores individuais de prognóstico para o tratamento da diabetes⁽¹⁹⁾.

No entanto, há uma necessidade de busca de fatores independentes destes fatores prognósticos que sinalizem os pacientes que serão bons respondedores ou não da terapêutica proposta.

No atual cenário da cirurgia bariátrica e metabólica, há indicação do tratamento cirúrgico da síndrome metabólica, em pacientes com refratariedade ao tratamento clínico da diabetes, com IMC cada vez menores⁽²⁰⁾. Neste contexto, identificar um meio metabonômico, que avalie o espectro metabólico dos pacientes que serão bons respondedores ao tratamento cirúrgico proposto, é bastante pertinente.

Estudo anterior aponta que o impacto metabólico da cirurgia bariátrica poderia ser acessado via metabonômica, demonstrando os efeitos cirúrgicos sobre diversos componentes e vias bioquímicas do organismo, apesar de o exato mecanismo fisiopatológico não estar completamente elucidado⁽²¹⁾.

A ferramenta que usamos em nosso estudo foi a ¹HRNM. Pois esta é uma das plataformas de análise metabonômica mais utilizadas nos estudos relacionados aos efeitos da cirurgia bariátrica, embora poucos. Alguns outros estudos, no entanto, utilizaram a espectrometria de massa, um método que permite a detecção,

caracterização e quantificação de metabolitos de baixo peso molecular das mais variadas classes, como lipídios, aminoácidos, peptídeos, ácidos nucleicos, ácidos orgânicos, vitaminas e carboidratos.

Mesmo com a atual falta de consenso e a necessidade de maior investigação, alguns grupos de metabólitos se destacaram, mostrando maior importância no processo fisiopatológico⁽²¹⁾. Um dos maiores grupos a sofrer alterações é o dos aminoácidos, os níveis de BCAA, por exemplo, foram correlacionados com resistência insulínica no pós-operatório^(21,22). Além dos aminoácidos, o metabolismo lipídico se mostrou alterado, principalmente relacionado aos níveis de ácidos graxos, triglicerídeos, LDL, HDL^(21,23). Outro fator importante é a modulação da microbiota intestinal, bacteroides e firmicutes, cujos níveis no pós-operatório mostram ligação com a perda de peso e remissão DM2^(21,24).

Em pacientes diabéticos, acredita-se que a remissão da DM2 ocorra independentemente da perda de peso⁽²⁵⁾, e as aplicações recentes da metabonômica nessa área possibilitaram a descoberta de marcadores de fisiopatologia, prognóstico e fatores de risco da doença⁽²⁶⁾.

Nesses casos, perfil metabólico por ¹H RNM mostrou alterações no metabolismo basal associadas à homeostase energética após cirurgia bariátrica, com diminuição da glicose e aumento de acetato e lactato, diminuição de BCAA e alterações no metabolismo lipídico^(27,28).

No nosso estudo, pudemos observar que a remissão da DM2 ocorreu independente. Mesmo em pacientes com reganho de peso, houve remissão da diabetes durante o prazo do acompanhamento.

Pelas limitações do seguimento a longo dos pacientes pela perda de seguimento foi optada pela análise estritamente pós-operatória, o que limita a avaliação como estudo para prognóstico.

O modelo para avaliar remissão da diabetes apresentou uma acurácia de 93,9% (31/33), sensibilidade de 81,8%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo (VPP) igual a 100% e valor preditivo negativo (VPN) igual a 91,7%. Foi realizado o teste F de Fischer para investigar se o modelo tem significância estatística. Foram utilizados 5 e 27 graus de liberdade, resultando em $F_{5,27} = 12,48$ ($p < 0.001$).

Não foi possível identificar explicação clínica para os dois pacientes que apresentaram recidiva da diabetes, porém não foram incluídos nos modelos

metabonômicos de ausência de recidiva. Uma possível explicação é que sejam *outliers*.

Além disso, é preciso investigar as regiões espectrais importantes para a discriminação, visando identificar os metabólitos. No entanto, o número de amostras ainda é muito reduzido no grupo positivo (recidiva de diabetes), considerando que temos 11 amostras e cinco desses também apresentaram reganho de massa.

No que pese ter uma relação entre os dois (recidiva de diabetes e reganho de massa), o fato de termos uma distribuição dessa forma torna mandatório aumentar o número de indivíduos nesse grupo para validar ainda mais o modelo como prognóstico, assim como comparar os perfis no pré e no pós-operatório.

Em relação aos resultados encontrados quanto a avaliação metabonômica para reganho de peso, a distribuição das amostras para o Modelo I são válidas para o Modelo II. Identificamos que há mais erros de classificação, sugerindo que o modelo é mais sensível a essa distribuição.

Nesse sentido, a investigação de possíveis metabólitos associados às discriminações observadas devem ter início apenas quando esses vieses na distribuição das amostras forem corrigidos, aumentando por exemplo, o número de pacientes avaliados.

Como perspectiva, pode-se inferir que a estratégia metabonômica seja método promissor de avaliação prognóstica de recidiva da diabetes e reganho de peso após cirurgia bariátrica em amostras de sangue de pacientes submetidos ao procedimento com finalidade de controle metabólico. Os resultados encontrados no estudo encorajam a continuidade deste projeto, após as correções metodológicas necessárias, além de nortear a expansão desta linha de pesquisa.

Com base nos resultados obtidos com a metodologia utilizada, conclui-se que:

O modelo metabonômico para avaliação de remissão ou recidiva de diabetes após cirurgia bariátrica mostrou-se eficaz e promissor como método de avaliação prognóstica.

REFERÊNCIAS

83. SBCBM. Sociedade Brasileira de Cirurgia Bariátrica e Metabólica. Disponível em: <<http://www.sbcm.org.br/wordpress/numero-de-cirurgias-bariatricas-no-brasil-cresce-75-em-2016/>>. Acesso em: 12 mai. 2019.

-
84. ABESO. Diretrizes Brasileiras de Obesidade, 2016. Disponível em: <<http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/92/57fccc403e5da.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2018.
 85. Ashraf H, Laway BA, Afroze D, Wani AI. Evaluation of proinflammatory cytokines in obesities vs non-obese patients with metabolic syndrome. *Indian J Endocrinol Metab.* 2018;22(5):751-6.
 86. Ohkura T, Yoshimura T, Fujisawa M, Ohara T, Marutani R, Usami K, Matsukawa A, et al. Srebp2 regulates high fat diet-induced adipose tissue inflammation, and metabolic abnormalities in mice. *Front Immunol.* 2019;22(10):17.
 87. Brown JC, Harhay MO, Harhay MN. The value of anthropometric measures in nutrition and metabolism: comment on anthropometrically predicted visceral adipose tissue and blood-based biomarkers: a cross-sectional analysis. *Nutr Metabol Insig.* 2019;12(2):1-7.
 88. Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, et al. Human Gut Microbiota in Obesity and after Gastric Bypass. *Proc Natl Acad Sci.* 2009;106(1): 2365-70.
 89. Zhang H, DiBaise JK, Zuccolo A, Kudrna D, Braidotti M, et al. Human Gut Microbiota in Obesity and after Gastric Bypass. *Proc Natl Acad Sci.* 2009;106(1): 2365-70.
 90. Pournaras DJ, Osborne A, Hawkins SC, Vincent RP, Mahon D, Ewings P, et al. Remission of Type 2 Diabetes After Gastric Bypass and Banding Mechanisms and 2 Year Outcomes. *Ann. Surg.* 2010;252:966-71.
 91. Lebovitz HE. Metabolic Surgery for Type 2 Diabetes with BMI < 35 kg/m². *Obes Surg.* 2013;23(1):800-8.
 92. Remígio MI, Santa Cruz F, Ferraz A, Remígio MC, Parente G, Nascimento I, et al. The impact of bariatric surgery on cardiopulmonary Function: analyzing VO₂ Recovery kinetics. *Obes Surg.* 2018 Dec;28(12):4039-4044.
 93. de Siqueira LT, Wanderley MSO, da Silva RA, da Silva Andrade Pereira A, de Lima Filho JL, Ferraz AAB. A screening study of potential carcinogen biomarkers after surgical treatment of obesity. *Obes Surg.* 2018;28(8):2487-93.
 94. Lebovitz H. Metabolic Surgery for Type 2 Diabetes: Appraisal of clinical evidence and review of randomized controlled clinical trials comparing surgery with medical therapy. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2013;15(1): 1-6.

-
95. Ikramuddin S, Korner J, Lee WJ, Connett JE, Inabnet WB, Billington CJ, et al. Roux-En-Y gastric bypass vs intensive medical management for the control of type 2 diabetes, hypertension, and hyperlipidemia: the diabetes surgery study randomized clinical trial. *JAMA*. 2013;309(21): 2240.
 96. Brasil. Agência Nacional de Saúde Suplementar. Rol de procedimentos e eventos em saúde 2016 [recurso eletrônico] / Agência Nacional de Saúde Suplementar. – Rio de Janeiro: ANS, 2016.
 97. Rocha VZ, Libby P. Obesity, inflammation, and atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*. 2009;6(6):399-409.
 98. Lopes TIB, Geloneze B, Pareja JC, Calixto AR, Ferreira MMC, Marsaioli AJ. “Omics” Prospective Monitoring of Bariatric Surgery: Roux-En-Y Gastric Bypass Outcomes Using Mixed-Meal Tolerance Test and Time-Resolved ^1H NMR-Based Metabolomics. *Omi A J Integr Biol*. 2016;20(7):415-23.
 99. Lopes TIB, Geloneze B, Pareja JC, Calixto AR, Ferreira MMC, Marsaioli AJ. Blood Metabolome Changes Before and After Bariatric Surgery: A ^1H NMR-Based Clinical Investigation. *Omi A J Integr Biol*. 2019;19(5):318–27.
 100. Kwon HN, Lee YJ, Kang J-H, Choi J-H, An YJ, Kang S, et al. Prediction of glycated hemoglobin levels at 3 months after metabolic surgery based on the 7-day plasma metabolic profile. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(11):e109609.
 101. Yu Y, Klem ML, Kalarchian MA, Ji M, Burke LE Predictors of weight regain after sleeve gastrectomy: an integrative review. *Surg Obes Relat Dis*. 2019; 1-11.
 102. Ferraz ÁAB, de Sá VCT, Santa-Cruz F, Siqueira LT, Silva LB, Campos JM. Roux-em-Y gastric bypass for nonobese patients with uncontrolled type 2 diabetes: a long-term evaluation. *Surg Obes Relat Dis*. 2019;15(5):682-7.
 103. Gallagher FA. An introduction to functional and molecular imaging with MRI. *Clin Radiol*, 2010;65(7):557-66.
 104. Keun HC. Metabonomic modeling of drug toxicity. *Pharmacol Ther*. 2006;109(1-2):92-106.
 105. Wolahan SM, Hirt D, Glenn TC. Translational metabolomics of head injury: exploring dysfunctional cerebral metabolism with ex vivo nmr spectroscopy-based metabolite quantification. 2015.
 106. Constantino MG, Silva GVJ, Heleno VCG, Borin IA, Campos IPA. Simulação de desdobramentos complexos de espectros de RMN de ^1H . 2006. p. 160-7.

107. Colnago LA, Almeida FCL, Valente AP. Espectrometria de Massa e RNM Multidimensional e Multinuclear. Atualidades em Química, 2002. p. 9-14.
108. Lopes TIB, Geloneze B, Pareja JC, Calixto AR, Ferreira MMC, Marsaioli AJ. “Omics” Prospective Monitoring of Bariatric Surgery: Roux-En-Y Gastric Bypass Outcomes Using Mixed-Meal Tolerance Test and Time-Resolved ^1H NMR-Based Metabolomics. *Omi A J Integr Biol*. 2016;20(7):415-23.
109. Lopes TIB, Geloneze B, Pareja JC, Calixto AR, Ferreira MMC, Marsaioli AJ. Blood Metabolome Changes Before and After Bariatric Surgery: A ^1H NMR-Based Clinical Investigation. *Omi A J Integr Biol*. 2019;19(5):318–27.
110. Kwon HN, Lee YJ, Kang J-H, Choi J-H, An YJ, Kang S, et al. Prediction of glycated hemoglobin levels at 3 months after metabolic surgery based on the 7-day plasma metabolic profile. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(11):e109609.

FIGURAS

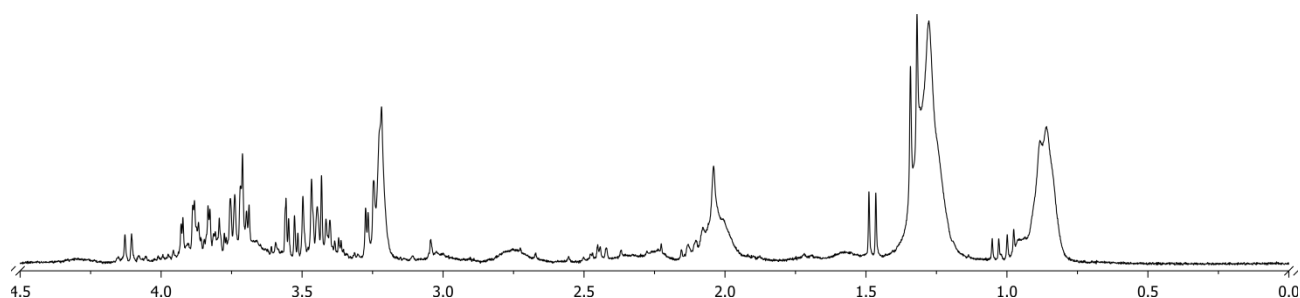


Figura 1. Espectro após processamento manual (amostra 1).

136			f ₀																	
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	
1	Amstras	REGANHO	RECIDIVA DM	0,039823	0,079646	0,119468	0,159291	0,199114	0,238937	0,278759	0,318582	0,358405	0,398228	0,438051	0,477873	0,517696	0,557519	0,597342	0,637164	0,676987
2	NÃO	NÃO		0,039741	0,245131	0,152915	0,116773	0,08288	0,001717	0,027019	0,018704	-0,00047	0,022891	0,051862	0,110757	0,125808	0,159295	0,200686	0,455333	0,71542
3	SIM	NÃO		-0,05729	0,087931	0,000435	-0,22915	-0,18768	-0,122	-0,18568	-0,08173	-0,197	-0,12495	-0,23028	-0,21377	-0,20777	-0,025472	-0,02779	0,037246	0,263977
4	NÃO	SIM		-0,074729	0,075101	0,017012	-0,20117	-0,08421	-0,16663	-0,20841	-0,17267	-0,26663	-0,43938	-0,21276	-0,29945	-0,31645	-0,34778	-0,30859	-0,37848	-0,10907
5	SIM	NÃO		0,091652	0,425928	0,230474	0,165291	0,152139	0,200719	0,080614	0,211233	0,209804	0,128938	0,354492	0,378487	0,396722	0,486078	0,493009	0,645983	1,03003
6	NÃO	NÃO		0,116938	0,334237	0,231437	0,030366	0,159149	0,172609	0,184667	0,212661	0,236691	0,286824	0,324468	0,376986	0,608776	0,60143	0,688811	0,917161	1,32588
7	NÃO	NÃO		0,387713	0,651513	0,532702	0,402768	0,507268	0,485237	0,572108	0,631978	0,711541	0,882396	0,950102	1,03332	0,19255	1,32832	1,52475	1,79434	3,28122
8	NÃO	NÃO		0,40066	0,54527	0,475787	0,348514	0,406569	0,514709	0,411255	0,589831	0,64851	0,659591	0,660888	0,847306	0,991321	1,13035	1,33156	1,59978	2,05459
9	NÃO	NÃO		-0,07804	0,113408	0,025286	-0,09007	-0,10704	-0,05732	-0,04826	0,087854	-0,032197	-0,10034	0,137296	0,107616	0,252127	0,308877	0,283417	0,548975	0,963116
10	SIM	NÃO		0,023449	0,33304	0,249047	0,048499	0,096614	0,069478	0,068169	0,034294	0,136638	0,133095	0,172731	0,282179	0,406629	0,361327	0,498037	0,60105	1,1924
11	NÃO	NÃO		0,184507	0,241548	0,176608	0,12597	0,119676	0,172182	0,19401	0,144478	0,115565	0,246634	0,210082	0,28649	0,466521	0,423433	0,632859	0,769696	0,98962
12	NÃO	SIM		0,542487	0,740994	0,684935	0,533932	0,696241	0,601124	0,748115	0,747961	0,828729	0,835233	0,993882	0,94778	1,06958	1,1665	1,47244	1,64988	2,2077
13	NÃO	NÃO		-0,07586	0,095305	0,125005	-0,0616	-0,10183	-0,09998	-0,06105	-0,00115	-0,06804	0,052262	0,034391	0,033096	0,084831	0,13338	0,224265	0,426382	0,885448
14	NÃO	NÃO		-0,03167	0,243545	0,076486	-0,08149	-0,02005	-0,09405	-0,02113	-0,03874	-0,00611	0,076447	-0,05395	-0,01685	0,101031	0,138787	0,288877	0,295909	0,706315
15	SIM	SIM		-0,03968	0,233955	0,069421	-0,09142	-0,02229	-0,10363	-0,02879	-0,04266	-0,00921	0,074852	-0,05451	-0,0191	0,08711	0,144342	0,29525	0,727171	0,724112
16	NÃO	NÃO		-0,08372	0,148791	0,137161	-0,02328	-0,0514	-0,01392	-0,04398	-0,0419	0,002572	0,037109	0,07171	0,127299	0,09825	0,120621	0,165777	0,243834	0,381982
17	NÃO	NÃO		-0,00288	0,095309	0,079703	-0,04029	-0,04611	0,013399	-0,03263	0,008743	-0,02288	-0,01566	0,026213	0,060894	0,077787	0,171214	0,198478	0,298451	0,547364
18	SIM	SIM		-0,04087	0,189913	0,154497	0,085125	0,083782	0,050428	-0,0041	0,08848	0,047407	0,050342	0,037973	0,12291	0,11338	0,06378	0,198128	0,38045	0,387757
19	SIM	NÃO		0,077782	0,280357	0,240253	0,10478	0,139931	0,127538	0,083748	0,06926	0,067519	0,192682	0,122122	0,135914	0,225935	0,330951	0,332968	0,423118	0,962955
20	SIM	SIM		0,137576	0,246671	0,12911	0,117745	-0,01455	-0,1273	-0,12329	-0,08618	-0,13122	-0,13018	-0,21308	-0,29676	0,283031	-0,39541	-0,39107	-0,50108	-0,33739
21	SIM	SIM		0,057532	0,271286	0,16446	0,11946	0,074726	0,07681	0,098786	0,118463	0,136598	0,172093	0,151253	0,243745	0,365249	0,332714	0,393981	0,53141	0,799552
22	NÃO	SIM		-0,03385	0,040315	0,188822	-0,1162	-0,11323	-0,09599	-0,11356	-0,16024	-0,26615	-0,14024	-0,29669	-0,27126	-0,18048	-0,24029	-0,22706	-0,24539	-0,0079
23	NÃO	NÃO		-0,04282	0,351295	0,102649	-0,12625	-0,18934	-0,201	-0,1632	-0,23305	-0,23066	-0,14337	-0,30071	-0,21926	-0,26398	-0,15066	-0,25414	-0,20153	0,079174
24	NÃO	SIM		-0,20601	0,068728	-0,09692	-0,20217	-0,27615	-0,20486	-0,23357	-0,32837	-0,37133	-0,2366	-0,24184	-0,34016	-0,17601	-0,30527	-0,24619	-0,17271	0,151534
25	NÃO	NÃO		-0,00171	0,13823	0,073554	-0,14377	-0,03967	-0,01976	0,030533	0,10123	0,085622	0,170701	0,193912	0,194638	0,260488	0,411244	0,548202	0,713921	1,10987

Figura 2: Matriz de bins com para construção dos modelos metabonômicos.

Figura 3: Matriz normalizada por SNV

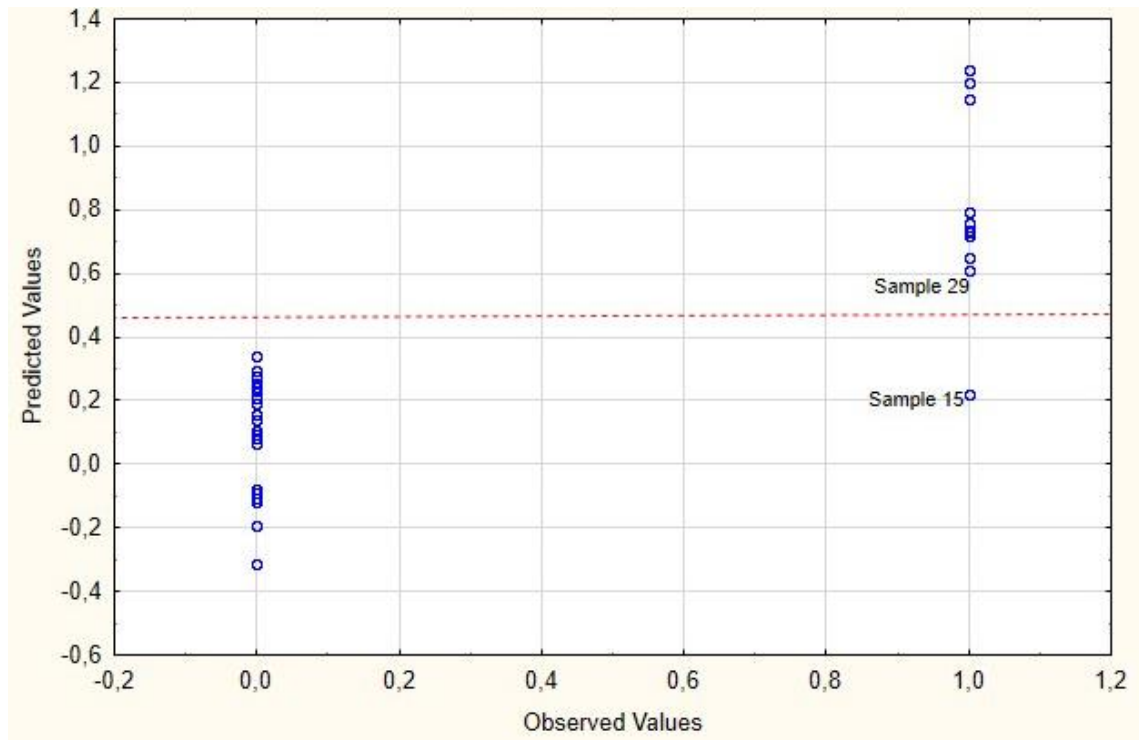


Figura 4. LDA - valores preditos versus valores observados

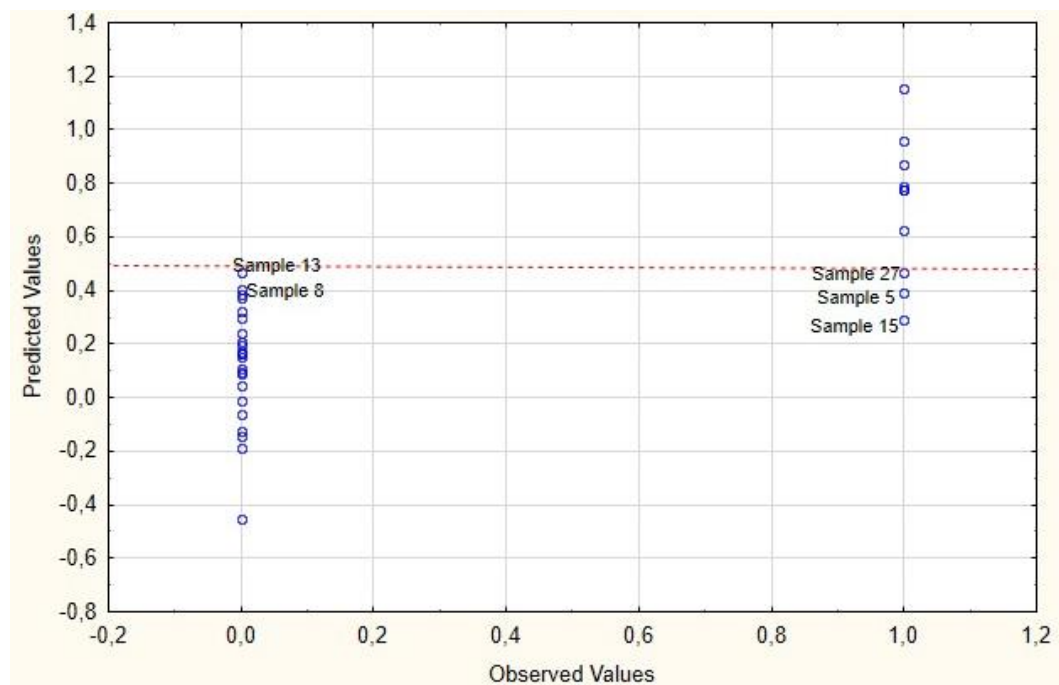


Figura 5. Modelo metabonômico para discriminação das amostras de pacientes que apresentaram ganho de massa após cirurgia bariátrica. LDA - valores preditos versus valores observados. Em destaque, as amostras que foram classificadas no grupo errado.

TABELAS

Tabela 1. Matriz de classificação do modelo metabonômico I (LDA, 5 variáveis, 33 amostras).

		Diagnóstico Clínico	
		Recidiva	Negativo
MM1	Recidiva	9	0
	Negativo	2	22

Tabela 2. Matriz de classificação do modelo metabonômico II (LDA, 5 variáveis, 33 amostras).

		Diagnostico Clínico	
		BIE	Controle
MM1	BIE	7	2
	Controle	3	21

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Desenvolvimento de Modelo Metabonômico para Prognóstico da Regressão da Diabetes *Mellitus* tipo II pós Cirurgia de Redução Bariátrica

Nós (Prof. Dr Álvaro Antônio Bandeira Ferraz, Prof. Dr Ricardo Oliveira da Silva, Prof. Dr. Paulo Renato A. Firmino, Dra. Luciana Teixeira de Siqueira, Dra. Hérika Rafaella de Abreu, Dr. Francisco Felipe de Araújo Rolim, Alyson Celson Medeiros de Oliveira, Carlos Jonnatan Pimentel Barros, Ronaldo Dionísio da Silva) responsáveis pela pesquisa Desenvolvimento de Modelo Metabonômico para Prognóstico da Regressão da Diabetes *Mellitus* tipo II pós Cirurgia de Redução Bariátrica, estamos fazendo um convite para você participar como voluntário deste nosso estudo.

Esta pesquisa pretende desenvolver modelos metabonômicos para prognóstico da regressão da Diabetes *mellitus* tipo II pós-cirurgia de redução bariátrica, utilizando espectros de RMN de ^1H de amostras de soro e urina. Acreditamos que ela seja importante porque, uma vez identificado o perfil de paciente que terá regressão da diabetes mellitus tipo II antes da cirurgia, poderemos prever qual paciente terá benefício nos níveis glicêmicos no pós-operatório. Para sua realização será feito o seguinte: utilização de amostras de sangue já colhidas em pacientes que foram submetidos a procedimentos de cirurgia bariátrica, bem como coleta de amostras de urina, e análise de qual padrão metabonômico está associado a boa resposta no pós operatório dos níveis glicêmicos. Sua participação constará de fornecer amostras de urina, bem como permitir a utilização de amostras de sangue já coletadas em ocasião do pré-operatório.

A sua participação não envolverá riscos para sua saúde. Os benefícios que esperamos como estudo são poder prever se o paciente diabético tipo II irá se beneficiar do ponto de vista endócrino com a cirurgia, constatar ou não a capacidade prognóstica do modelo metabonômico, investigar qual ou quais metabólitos estão associados a melhor ou pior prognóstico com a cirurgia, facilitando a indicação mais criteriosa da cirurgia bariátrica nos pacientes com diabetes mellitus tipo II.

Durante todo o período da pesquisa você tem o direito de tirar qualquer dúvida ou pedir qualquer outro esclarecimento, bastando para isso entrar em contato, com algum dos pesquisadores ou com o Conselho de Ética em Pesquisa. Em caso de algum problema relacionado com a pesquisa você terá direito à assistência gratuita que será prestada.

Você tem garantido o seu direito de não aceitar participar ou de retirar sua permissão, a qualquer momento, sem nenhum tipo de prejuízo ou retaliação, pela sua decisão.

As informações desta pesquisa serão confidenciais, e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre sua participação.

O material biológico coletado será utilizado para análise por espectros de RMN de ^1H . Fica também garantida indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extrajudicial.

Autorização:

Eu, _____ ,
após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e ter tido a oportunidade de conversar com o pesquisador responsável, para esclarecer todas as minhas dúvidas,

acredito estar suficientemente informado, ficando claro para mim que minha participação é voluntária e que posso retirar este consentimento a qualquer momento sem penalidades ou perda de qualquer benefício. Estou ciente também dos objetivos da pesquisa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos possíveis danos ou riscos deles provenientes e da garantia de confidencialidade e esclarecimentos sempre que desejar. Diante do exposto expresso minha concordância de espontânea vontade em participar deste estudo.

Assinatura do voluntário ou de seu representante legal

Assinatura de uma testemunha

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste voluntário (ou de seu representante legal) para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pela obtenção do TCLE

Hospital das Clínicas UFPE
Av. Professor Moraes Rego, 1235. Cidade Universitária, Recife-PE. CEP.:
50.670-901
Departamento de Cirurgia Geral
Fone: 21263654 (sala dos residentes) (81) 2126 8000

ANEXO A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DESENVOLVIMENTO DE MODELO METABONÔMICO PARA PROGNÓSTICO DA REMISSÃO DA DIABETES MELLITUS TIPO II PÓS CIRURGIA BARIÁTRICA

Pesquisador: CLARISSA GUEDES NORONHA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 03919118.7.0000.8807

Instituição Proponente: EMPRESA BRASILEIRA DE SERVIÇOS HOSPITALARES - EBSERH

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.072.610

Apresentação do Projeto:

Finalidade do projeto: Projeto de pesquisa com finalidade de obtenção de título de Mestre em cirurgia sob a orientação do Prof. Dr. Alvaro Antônio Bandeira Ferraz

Local da realização do projeto: O estudo será realizado com pacientes que serão submetidos a cirurgia bariátrica no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Objetivo da Pesquisa:

Desenvolver modelos metabonômicos, utilizando espectros de RMN de 1H de amostras de soro, para (a) prognóstico da regressão da Diabetes mellitus tipo II pós-cirurgia de redução bariátrica

Específicos

1. Investigar qual(is) das sequências de pulsos de RF – PRESAT, WET ou CPMG melhor se aplica para obtenção dos espectros de RMN de 1H para otimizar os resultados, discriminando os grupos com maior ou menor probabilidade de regressão da diabetes mellitus;
2. Investigar quais ferramentas de estatística multivariada melhor se aplica aos dados coletados – PCA, HCA, KNN e PLS-DA, e construir um modelo metabonômico para o prognóstico de regressão da diabetes mellitus;
3. Investigar quais metabólitos endógenos estão associados ao prognóstico de regressão da diabetes mellitus (ou do perfil glicêmico de diabetes) pós cirurgia bariátrica;

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cepcufpe@gmail.com

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -



Continuação do Parecer: 3.072.610

4. Investigar o impacto na indicação da cirurgia bariátrica para alguns obesos diabéticos como terapêutica de escolha para perfis de pacientes específicos previstos como responsivos, através do estudo metabonômico do plasma.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Perda da amostra coletada. Todos os outros procedimentos são da rotina dos cuidados de pacientes submetidos à cirurgia bariátrica.

Benefícios: possibilidade de desenvolver processos capazes de prever se o paciente diabético tipo II irá se beneficiar do ponto de vista endócrino com a cirurgia, objetivando uma indicação mais criteriosa da cirurgia bariátrica nos pacientes com diabetes mellitus tipo II

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Desenho da pesquisa: Estudo coorte transversal

Métodos:

Serão incluídos 80 pacientes com diagnóstico positivo para diabetes mellitus tipo II que tenham indicação clínica para a cirurgia bariátrica com idade entre 18 e 65 anos. Serão excluídos pacientes com diabetes tipo 1 e fora da faixa etária sem indicação para cirurgia bariátrica.

A pesquisa propriamente será realizada em mostras sangue serão coletadas antes da cirurgia bariátrica e passados 15 e 30 dias da intervenção cirúrgica, no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da UFPE, onde serão realizadas todas as determinações de rotina. Amostras do soro e de urina de cada paciente serão encaminhadas ao Laboratório de Química para a obtenção dos espectros de ressonância nuclear magnética.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de relevante pesquisa que pode trazer benefícios na capacidade de predição dos desfechos do diabetes tipo II em indivíduos submetidos a cirurgia bariátrica.

o Folha de rosto - Adequada

o Cartas de anuência e autorização de uso de dados - Adequada

o TCLE – Adequado

o Termo de compromisso – Adequado

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephufpe@gmail.com

**UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -**



Continuação do Parecer: 3.072.610

Recomendações:

nenhuma

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Nenhuma

Considerações Finais a critério do CEP:

O Protocolo foi avaliado na reunião do CEP e está APROVADO para iniciar a coleta de dados. Informamos que a APROVAÇÃO DEFINITIVA do projeto só será dada após o envio da Notificação com o Relatório Final da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de Relatório Final para enviá-lo via "Notificação", pela Plataforma Brasil. Siga as instruções do link "Para enviar Relatório Final", disponível no site do CEP HC/UFPE. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao voluntário participante (item V.3., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

Para projetos com mais de um ano de execução, é obrigatório que o pesquisador responsável pelo Protocolo de Pesquisa apresente a este Comitê de Ética, relatórios parciais das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação (item X.1.3.b., da Resolução CNS/MS Nº 466/12).

O CEP HC/UFPE deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (item V.5., da Resolução CNS/MS Nº 466/12). É papel do/a pesquisador/a assegurar todas as medidas imediatas e adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e ainda, enviar notificação à ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, junto com seu posicionamento.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1237020.pdf	28/11/2018 10:56:35		Aceito
Folha de Rosto	rosto_ass.pdf	28/11/2018 10:55:17	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito

Endereço: Av. Professor Moraes Rego, S/N, 3º andar do prédio principal (enfermarias)

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.670-901

UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-3743

E-mail: cephufpe@gmail.com

UFPE - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -



Continuação do Parecer: 3.072.610

Outros	sigla_clarissa.jpg	22/11/2018 12:20:15	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	compromisso.pdf	22/11/2018 12:18:48	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	Lattes_Tatiane.pdf	22/11/2018 12:16:43	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	Lattes_Ricardo.pdf	22/11/2018 12:16:24	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	Lattes_Marcelo.pdf	22/11/2018 12:16:06	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	Lattes_Luca.pdf	22/11/2018 12:15:42	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	Lattes_Clarissa.pdf	22/11/2018 12:15:17	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	Lattes_Alvaro.pdf	22/11/2018 12:14:35	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_1.docx	22/11/2018 12:11:26	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_detalhado.docx	22/11/2018 12:11:03	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito
Outros	anuencia.pdf	22/11/2018 12:10:32	LUCA TERRACINI DOMPIERI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 11 de Dezembro de 2018

Assinado por:
José Ângelo Rizzo
(Coordenador(a))