

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

Fabiana Alves Nunes

ESTUDO DA DENSIDADE DAS CÉLULAS ENDÓCRINAS E
PRODUTORAS DE GHRELINA NA MUCOSA GÁSTRICA
DE PACIENTES PORTADORES DE OBESIDADE MÓRBIDA

Belo Horizonte
2005

Fabiana Alves Nunes

ESTUDO DA DENSIDADE DAS CÉLULAS ENDÓCRINAS E
PRODUTORAS DE GHRELINA NA MUCOSA GÁSTRICA
DE PACIENTES PORTADORES DE OBESIDADE MÓRBIDA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação da Faculdade de Medicina da
Universidade Federal de Minas Gerais
(UFMG), como requisito parcial à obtenção
ao título de Mestre em Medicina, área de
Concentração em Gastroenterologia.

Orientador: Prof. Alfredo José Afonso
Barbosa

Belo Horizonte
2005

Nunes, Fabiana Alves

N972e Estudo da densidade das células endócrinas e produtoras de ghrelina na mucosa gástrica de pacientes portadores de obesidade mórbida/Fabiana Alves

Nunes. Belo Horizonte, 2005.

77 f. ilus.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina

Área de concentração: Gastroenterologia

Orientador: Alfredo José Afonso Barbosa

1.Obesidade mórbida 2.Estômago/fisiopatologia 3.Mucosa gástrica/
anatomia e histologia 4.Células APUD 5.Hormônios

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITORA

Ana Lúcia Almeida Gazzola

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Jaime Arturo Ramires

PRÓ-REITOR DE PESQUISA

José Aurélio Garcia Bergmann

DIRETOR DA FACULDADE DE MEDICINA

Geraldo Brasileiro Filho

COORDENADOR DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Francisco José Penna

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM GASTROENTEROLOGIA

Marco Túlio Costa Diniz

COLEGIADO DA PÓS-GRADUAÇÃO EM GASTROENTEROLOGIA

Marco Túlio Costa Diniz

Luiz Gonzaga Vaz Coelho

Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Luciana Dias Moretzsohn

Cláudia Alves Couto

Ivan René Viana Omonte (Representante discente)

APROVAÇÃO

Dissertação apresentada e defendida perante a Comissão Examinadora,
constituída pelos Professores:

- Prof. Alfredo José Afonso Barbosa/orientador
- Prof. Fausto Edmundo Lima Pereira
- Prof. Marco Túlio Costa Diniz

Belo Horizonte, 04 de novembro de 2005

DEDICATÓRIA

À minha mãe, pelo apoio, estímulo e amor incondicional. Obrigada pela sua garra, modelo que me fez acreditar que os sonhos são realizáveis se lutamos por eles.

AGRADECIMENTOS

“ O mais amplo do mundo, o conhecimento, o reconhecimento, a alegria deixada por um presente, como um suavíssimo cometa, tudo isto e muito mais cabem na extensão de uma palavra: Obrigado! “

Pablo Neruda

À Deus, pelo dom da vida e por iluminar meu caminho

Ao Prof. Alfredo, pela amizade, estímulo e orientação. Por acreditar no meu trabalho, e me despertar para a pesquisa e para a Pós-graduação desde os tempos de estudante.

Aos colegas do Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, em especial o Prof. Dr. Marco Túlio da Costa Diniz e Dr. Jairo Nunes, pelo apoio e colaboração na realização do trabalho

À Profa. Lúcia Porto de Castro e à Lourdinha, do Laboratório de Imuno-histoquímica pelo apoio na realização da técnica de Imuno-histoquímica.

Ao Prof. Eugênio Marcos Andrade Goulard pelas orientações na análise estatística

Aos meus pais e irmãos, Tati, Fred e Geo, e meus amigos pelo incentivo e compreensão

Ao Alexandre, sonho antigo que se realizou, pelo companheirismo, paciência e incentivo durante a realização deste trabalho

À Adriana Maria Kakehasi, pela amizade, e pelas valiosas sugestões

À Profa. Maria de Fátima H. Sander Diniz pelas sugestões e apoio

Aos amigos do LPDN, em especial à Helen, pela colaboração

Aos funcionários do Instituto Alfa de Gastroenterologia, em especial Luciene, pela colaboração

Aos pacientes que aceitaram participar do estudo e à todos que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho

“Não existe ponto final. Tudo acaba em pontos de partida...”

Roberto Freire

Lista de abreviaturas

AGRP	Proteína Agouti
APUD	<i>Amine Precursor Uptake and Decarboxilation</i>
Arg	Célula argirófila
A/X like	Célula semelhante às células A e X
CART	Transcrito regulado por cocaína e anfetamina
Células D	Células produtoras de somatostatina
Células EC	Células <i>Enterochromaffin</i>
Células ECL	Células <i>Enterochromaffin-like</i>
Células G	Células produtoras de gastrina
Células P	Células parietais
EDA	Endoscopia digestiva alta
GABA	Ácido gama aminobutírico
GH	Hormônio de crescimento
GHRH	Hormônio estimulador da secreção do GH
GHS-R	Receptor de secretagogo de GH
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon tipo 1
Ghr	Célula imunoreativa à ghrelina
HE	Hematoxilina eosina
Hp	<i>Helicobacter pylori</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de massa corporal
LPDN	Laboratório de Patologia Digestiva e Neuroendócrina
MC4R	Receptor da melanocortina 4
MCH	Hormônio concentrador demelanina
mg	Miligramas
mm	Milímetros
mm ²	Milímetros quadrados
MSH α	α -Melanotropina
NCHS	Nacional Center for Health Statistics
NEM	Neoplasia endócrina múltipla
NHES	National Health Examination Survey
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey-

NPY	Neuropeptídeo Y
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Tampão fosfato
POMC	Proopiomelanocortina
PP	Polipeptídeo pancreático
PYY	Peptídeo YY
SPW	Síndrome de Prader Willi
UCP	Proteína da unidade desacopladora

Lista de Figuras

		Página
FIGURA 1	Esquema de contagem das células argirófilas e das células imunorreativas à ghrelina : Seis (6) campos seguidos de 0,04 mm ² em toda a espessura da mucosa; Aumento de 400x	25
FIGURA 2	Esquema de células com distribuição normal e diferentes tipos de hiperplasias endócrinas da mucosa gástrica. A-Normal; B- Hiperplasia difusa; C-Hiperplasia linear; D-hiperplasia nodular; E- Hiperplasia adenomatóide.	26
FIGURA 3	Mucosa gástrica de paciente portador de Obesidade, sem alterações histológicas relevantes A-Corpo gástrico, B- Antro gástrico, HE, 50x	30
FIGURA 4	Mucosa gástrica de paciente portador de obesidade, com infiltrado inflamatório. Gastrite crônica, HE, 50x	30
FIGURA 5	Presença da bactéria <i>Helicobacter pylori</i> nas foveólas gástricas Giemsa, 100x	30
FIGURA 6	Células endócrinas (argirófilas) da mucosa oxíntica, Grimelius, 400x	32
FIGURA 7	Células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica, Imunohistoquímica, 400x	39
FIGURA 8	Hiperplasia de células argirófilas na mucosa gástrica antral A- Difusa e linear, 50x B-Nodular, Grimelius, 400x	49
FIGURA 9	Hiperplasia de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral A- Difusa, B-Nodular, Imono-histoquímica, 400x	50

Lista de tabelas		Página
TABELA 1	Classificação sobrepeso e obesidade de acordo com o IMC segundo a OMS (1997)	4
TABELA 2	Distribuição da frequência dos achados histológicos da mucosa gástrica de pacientes obesos e não obesos	29
TABELA 3	Densidade (cels/mm ²) de células argirófilas na mucosa oxíntica dos pacientes obesos e não obesos.	33
TABELA 4	Densidade (cels/mm ²) de células argirófilas na mucosa antral de pacientes obesos e não obesos.	33
TABELA 5	Densidade (cels/mm ²) das células argirófilas na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos nos pacientes obesos	33
TABELA 6	Densidade (cels/mm ²) das células argirófilas na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos nos pacientes não obesos	34
TABELA 7	Densidade (cels/mm ²) das células argirófilas na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes obesos	34
TABELA 8	Densidade (céls /mm ²) das células argirófilas na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes não obesos	35
TABELA 9	Densidade (céls /mm ²) de células argirófilas na mucosa oxíntica em relação ao sexo	35
TABELA 10	Densidade (céls /mm ²) de células argirófilas na mucosa oxíntica em pacientes obesos em relação ao sexo	36
TABELA 11	Densidade (céls /mm ²) de células argirófilas na mucosa oxíntica em pacientes não obesos em relação ao sexo	36

		Página
TABELA 12	Densidade (céls /mm ²) de células argirófilas na mucosa antral em relação ao sexo	36
TABELA 13	Densidade (céls /mm ²) de células argirófilas na mucosa antral em pacientes obesos em relação ao sexo	37
TABELA 14	Densidade (céls /mm ²) de células argirófilas na mucosa antral em pacientes não obesos em relação ao sexo	37
TABELA 15	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica de pacientes obesos e não obesos	39
TABELA 16	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral de pacientes obesos e não obesos	40
TABELA 17	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos em pacientes obesos	40
TABELA 18	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos em pacientes não obesos	40
TABELA 19	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes obesos	41
TABELA 20	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes não obesos	41

		Página
TABELA 21	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica e relação com sexo em todos os pacientes, obesos e não obesos	42
TABELA 22	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica em pacientes obesos em relação ao sexo	42
TABELA 23	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica em pacientes não obesos em relação ao sexo	42
TABELA 24	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral em relação ao sexo	43
TABELA 25	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral em pacientes obesos em relação ao sexo	43
TABELA 26	Densidade (céls /mm ²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral em pacientes não obesos em relação ao sexo	43
TABELA 27	Densidade (céls /mm ²) das células argirófilas na mucosa oxíntica <i>versus Helicobacter pylori</i>	44
TABELA 28	Densidade (céls /mm ²) das células argirófilas na mucosa antral <i>versus Helicobacter pylori</i> (cels/mm ²)	45
TABELA 29	Densidade (céls /mm ²) das células argirófilas na mucosa oxíntica <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes obesos	45
TABELA 30	Densidade (céls /mm ²) das células argirófilas na mucosa oxíntica <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes não obesos	45
TABELA 31	Densidade (céls /mm ²) das células argirófilas na mucosa antral <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes obesos	46

		Página
TABELA 32	Densidade (céls /mm ²) das células argirófilas na mucosa antral <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes não obesos	46
TABELA 33	Densidade (céls /mm ²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica <i>versus Helicobacter pylori</i>	46
TABELA 34	Densidade (céls /mm ²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral <i>versus Helicobacter pylori</i>	47
TABELA 35	Densidade (céls /mm ²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes obesos	47
TABELA 36	Densidade (céls /mm ²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes não obesos	47
TABELA 37	Densidade (céls /mm ²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes obesos	48
TABELA 38	Densidade (céls /mm ²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral <i>versus Helicobacter pylori</i> em pacientes não obesos	48
TABELA 39	Mucosa oxíntica -Distribuição da frequência das hiperplasias das células argirófilas nos grupos obeso e não obeso	50
TABELA 40	Mucosa antral- Distribuição da frequência das hiperplasias de células argirófilas nos grupos obeso e não obeso	50
TABELA 41	Mucosa oxíntica- Distribuição da frequência das hiperplasias de células produtoras de ghrelina nos grupos obeso e não obeso	51
TABELA 42	Mucosa antral- Distribuição da frequência das hiperplasias de células produtoras de ghrelina nos grupos obeso e não obeso	51

RESUMO

Fabiana Alves Nunes. **Estudo da densidade das células endócrinas e produtoras de ghrelina na mucosa gástrica de pacientes portadores de obesidade mórbida.** Belo Horizonte, 2005. Dissertação de Mestrado em Medicina, área de Concentração em Gastroenterologia- Faculdade de Medicina da UFMG

Introdução e objetivos: A obesidade, condição definida pelo acúmulo excessivo do tecido adiposo, apresenta uma prevalência crescente, numa taxa alarmante em todo o mundo, e está associada a co-morbididades e elevados custos. A recente descoberta de peptídeos produzidos no tubo digestivo com provável papel sobre o equilíbrio energético, em especial a ghrelina gástrica, tem aberto novas perspectivas de estudo sobre possíveis fatores patogênicos deste distúrbio metabólico. O objetivo do presente estudo foi estudar as alterações histopatológicas da mucosa gástrica, em pacientes portadores de obesidade mórbida, enfatizando-se a presença e características da gastrite e a presença do *Helicobacter pylori*, assim como, estudar a densidade da população de células endócrinas em geral e das células produtoras de ghrelina em particular, na mucosa gástrica da região antral e oxíntica tendo como controle pacientes dispépticos funcionais, não obesos. **Pacientes e métodos:** Cinquenta pacientes portadores de obesidade mórbida, candidatos à cirurgia bariátrica, e cinquenta pacientes dispépticos, com IMC <30, foram submetidos à endoscopia digestiva alta. Fragmentos da mucosa gástrica oxíntica e antral foram coletados para avaliação histológica, coloração pela prata (Grimelius) para estudo das células argirófilas e imuno-histoquímica para células produtoras de ghrelina. A infecção pelo *Helicobacter pylori* (Hp) foi avaliada através da histologia utilizando-se a coloração pelo Giemsa. **Resultados:** Os achados histológicos assim como a prevalência do Hp foram semelhantes entre os pacientes obesos mórbidos e os pacientes não obesos. A densidade das células argirófilas na mucosa oxíntica do grupo de pacientes obesos foi significativamente maior no sexo feminino ($p < 0,05$). A densidade das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral foi maior no grupo de pacientes obesos ($p < 0,05$) enquanto que na mucosa oxíntica

não houve diferença. Nesta área houve diferença estatisticamente significativa entre a população de células imunorreativas à ghrelina no grupo dos pacientes obesos, sendo mais numerosas no sexo feminino ($p < 0,05$). A densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica foi significativamente maior entre os pacientes Hp negativos. Foi observada maior frequência de alterações hiperplásicas focais tanto das células argirófilas quanto das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral de pacientes obesos mórbidos em relação aos pacientes não obesos ($p < 0,05$). **Conclusões:** O presente trabalho sugere que alterações na população de células endócrinas gastrointestinais e em particular as células produtoras de ghrelina, associadas à presença da bactéria Hp, possam estar associadas à fatores individuais na fisiopatogênese da obesidade.

Palavras chaves: Obesidade; Ghrelina; Estômago; células APUD; *Helicobacter pylori*

SUMMARY

Fabiana Alves Nunes. **Study of the density of endocrine and ghrelin producer cells in the gastric mucosa of patients with morbid obesity.** Belo Horizonte, 2005. Dissertation for M.Sc in Gastroenterology - School of Medicine, UFMG, Brazil.

Introduction and objectives: Obesity, a condition defined as the excessive accumulation of adipose tissue, has shown increasing prevalence, and an alarming rate worldwide, with associated comorbidity and high costs. The recent discovery of peptides produced in the digestive tube with a probable role in energy equilibrium, and in particular gastric ghrelin has opened new perspectives of study into possible pathogenic factors of this metabolic disturbance. The objective of the present study was to study the histopathological alterations of the gastric mucosa, in patients with morbid obesity, with emphasis on the presence and characteristics of gastritis and the presence of *Helicobacter pylori*, as well as, study the population density of endocrine cells in general and of ghrelin cell producers in particular, in the antral and oxyntic gastric mucosa with a control group of functionally dyspeptic patients who were not obese. **Patients and methods:** Fifty morbidly obese patients, candidates for bariatric surgery, and fifty dyspeptic patients, with BMI <30, underwent upper digestive endoscopy. Fragments of oxyntic and antral gastric mucosa were collected for histological evaluation, silver stained (Grimelius) to study argyrophilic cells and imuno-histochemistry for ghrelin producer cells. Infection by *Helicobacter pylori* (Hp) was evaluated histologically using Giemsa stain. **Results:** the histological findings as well as the prevalence of Hp were similar between the morbidly obese patients and the patients who were not obese. The density of argyrophilic cells in the oxyntic mucosa of the obese group of patients was significantly greater in women ($p<0.05$). The density of immunoreactive cells to ghrelin in the antral mucosa was greater in the obese group of patients ($p<0.05$) while in the oxyntic mucosa there was no difference. This area had a statistically significant difference between the population of immunoreactive cells to ghrelin in the group of obese patients, being more numerous among women ($p<0.05$). The density of immunoreactive cells to ghrelin in the oxyntic mucosa was significantly greater

among Hp negative patients. There was observed a greater frequency of focal hyperplastic alterations both of the argyrophilic cells as well as immunoreactive cells to ghrelin in the antral mucosa of morbidly obese patients in relation to patients who were not obese ($p < 0.05$). **Conclusions:** The present study suggests that alterations in the gastrointestinal endocrine cell population and in particular the producer cells of ghrelin, associated with the presence of Hp bacteria, may be associated with individual factors in the physio-pathogenesis of obesity.

keywords: Obesity; Ghrelin; stomach; APUD cells; *Helicobacter pylori*

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	01
Revisão da literatura.....	03
Obesidade.....	03
Hormônios gastrointestinais e ingestão alimentar.....	10
Ghrelina.....	12
Mucosa gástrica.....	16
OBJETIVOS DO TRABALHO.....	20
PACIENTES E MÉTODOS.....	22
Pacientes.....	22
Endoscopia Digestiva Alta.....	22
Colorações para estudo histológico.....	23
Avaliação histopatológica da mucosa gástrica.....	24
Contagem das células argirófilas e imunorreativas à ghrelina.....	24
Avaliação das alterações hiperplásicas.....	25
Análise estatística.....	27
RESULTADOS.....	29
Avaliação histológica da mucosa gástrica.....	29
Avaliação da população de células argirófilas da mucosa gástrica.....	31
Avaliação das células imunorreativas à ghrelina na mucosa gástrica.....	37
Avaliação da presença da bactéria <i>Helicobacter pylori</i>	44
Avaliação das alterações hiperplásicas.....	49
DISCUSSÃO.....	53
CONCLUSÕES.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64
ANEXOS:	
Termo de Consentimento e Livre esclarecimento.....	76
Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG-COEP.....	77

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

Nas diferentes fases da vida, a composição corporal de cada indivíduo, definida como a quantificação do corpo humano em massa magra (músculos, ossos, órgãos) e gordura (1), reflete a interação do patrimônio genético e constitucional com o macro ambiente sócio-econômico e cultural. A composição corporal é um importante fator de equilíbrio da saúde dos indivíduos, com reflexos não somente orgânicos, mas também psicológicos, principalmente nos valores vigentes na sociedade atual.

Quando se consideram as condições de saúde e nutrição das populações tem-se a oportunidade de identificar não apenas os indivíduos capazes de manter a composição corporal adequada, mas também aqueles que por algum motivo perderam essa capacidade e como consequência desenvolveram sobrepeso ou obesidade (2). A Organização Mundial de Saúde recomenda a classificação de sobrepeso e obesidade nos indivíduos segundo o Índice de Massa Corporal (IMC), coeficiente obtido pela divisão do peso em quilogramas pelo quadrado do valor da altura em metros. Considera-se sobrepeso quando o IMC for igual ou superior a 25 e obesidade quando o IMC encontrar-se igual ou superior a 30. Os indivíduos cujo IMC for igual ou superior a 40 são considerados obesos mórbidos (3).

A obesidade, condição definida pelo acúmulo excessivo do tecido adiposo, apresenta uma prevalência crescente, numa taxa alarmante em todo o mundo, tanto em países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento. Além disso, como o problema parece estar aumentando rapidamente em crianças, as consequências reais para a saúde podem ser desastrosas no futuro.

As consequências da obesidade sobre a saúde são inúmeras, variando de um risco aumentado de morte prematura a várias doenças não fatais, porém debilitantes, que possuem efeitos deletérios sobre a qualidade de vida. A obesidade é um fator de risco para doenças como diabetes mellitus tipo 2, hipertensão arterial sistêmica, doença cardiovascular, dislipidemia, síndrome da hipoventilação, doenças osteoarticulares e está relacionado com risco aumentado de determinados tipos de neoplasias, como de cólon, mama, próstata, dentre outros (2).

Recentemente, com a descoberta de peptídeos produzidos no tubo digestivo, e com provável papel sobre o equilíbrio energético, têm aberto novas perspectivas de estudo sobre possíveis fatores patogênicos desta doença. Estes estudos têm focado o

peptídeo ghrelina, produzido principalmente na mucosa gástrica e cuja liberação parece estar relacionada com os estados de jejum e de saciedade tanto no homem como em animais de experimentação (4, 5). Trabalhos sugeriram que esse possível controle do consumo de alimentos estaria alterado em pacientes obesos (6, 7).

As células produtoras de ghrelina foram identificadas em diversos órgãos como hipotálamo, pâncreas, duodeno, pulmões, entre outros, mas é a mucosa oxíntica do estômago o principal local de produção e a responsável pela maior parte da concentração sérica deste peptídeo (8, 9). A remoção cirúrgica do corpo gástrico de ratos provocou redução de 80% da concentração sérica de ghrelina e da mesma forma os níveis séricos de ghrelina reduziram de forma significativa após cirurgia bariátrica de “By-pass” gástrico (10,11).

Alguns estudos tem relacionado a presença da bactéria *Helicobater pylori* na mucosa gástrica com os níveis séricos de ghrelina, com resultados divergentes, porém a maioria dos estudos realizados observaram aumento da ghrelina sérica após a erradicação da bactéria.

Portanto, no presente momento estudos na área dos componentes da mucosa gástrica endócrina seriam úteis para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na patogênese da obesidade.

REVISÃO DA LITERATURA

Obesidade

A obesidade é uma condição complexa e multifatorial, caracterizada por distúrbio do estado nutricional traduzido por aumento de tecido adiposo. Geralmente, homens com mais de 25% de gordura corporal e mulheres com mais de 35% são considerados obesos (2).

No decorrer da maior parte da história humana, o ganho de peso e o armazenamento de gordura foram vistos como sinais de saúde e prosperidade. Em épocas de trabalho árduo e escassez de alimentos, garantir a ingestão adequada para suprir as necessidades era a principal preocupação nutricional. Atualmente, porém, como os padrões de vida continuam a melhorar, o ganho de peso e a obesidade representam ameaças crescentes em países desenvolvidos assim como em países em desenvolvimento, atingindo a população adulta e crianças.

Registros históricos de épocas remotas da civilização greco-romana demonstraram evidência clínica de obesidade, mas houve pouco progresso científico na compreensão desta condição até o século XX. No século XVIII, Lavoisier sugeriu que o metabolismo dos humanos e animais envolvia combustão de carbono e hidrogênio e que humanos obesos e magros obedeciam às leis da termodinâmica (12). A descoberta de que a gordura é armazenada em células levou à idéia de que a obesidade poderia ser causada pela presença de muitas células de gordura (12).

No início do século XX, análises de dados de seguros de vida indicaram que a obesidade estava associada a um aumento da taxa de mortalidade. Uma base familiar para a obesidade foi sugerida na década de 1920 e a doença de Cushing e a obesidade hipotalâmica foram descritas nesta época. A seguir, a introdução do hormônio tireoidiano e derivados de anfetamina como tratamentos farmacológicos para a obesidade abriram caminho para a compreensão de várias formas específicas de obesidade (12).

Avanços consideráveis foram realizados em relação ao maior entendimento sobre dietas, exercícios físicos e abordagens comportamentais para o tratamento da obesidade. Novas drogas com perfis de atividade farmacológicas mais específicas continuam sendo introduzidos e a cirurgia bariátrica revelou-se a modalidade terapêutica mais eficaz por longo prazo para os obesos graves. Independente do progresso, entretanto, a prevalência de obesidade continua a aumentar rapidamente e o desafio para os profissionais de saúde pública e pesquisadores nunca foi tão grande.

A avaliação do estado nutricional de adultos era tradicionalmente feita através do conceito de "peso ideal" obtido pela comparação da massa corporal em função da estatura com um padrão antropométrico internacional. Se a massa corporal estivesse acima de 20% do padrão, dizia-se que a pessoa era obesa (2). Muitos estudiosos questionam sobre a inadequação da utilização de padrão único universal para adultos, já que há grande variação da estatura média das populações adultas do mundo. Portanto, existe a necessidade do desenvolvimento de indicadores antropométricos do estado nutricional que reflitam a composição corporal e que sejam simples de se obter. A busca para o desenvolvimento de tais indicadores tem sido baseada nos dados de massa corporal e estatura. Análises de grandes bancos de dados foram realizadas na tentativa de se encontrar a melhor relação massa corporal/estatura que preenchesse os requisitos mencionados. Há duas décadas, Keys et al. (13) sugeriram chamar a relação massa corporal/estatura² de Índice de Massa Corporal (IMC), com a massa corporal expressa em quilogramas e a estatura em metros, e desde então esta relação ficou popular na avaliação nutricional de adultos, e alguns estudiosos passaram a chamá-la também de índice de Quetelet em homenagem a seu criador. Essa popularização se deve ao fato do IMC ser aparentemente o índice de melhor correlação com o peso (valores do coeficiente de correlação "r" normalmente superiores a 0,8), fato documentado internacionalmente em amostras de populações adultas (2,12). Hoje a classificação de sobrepeso e obesidade recomendada pela Organização Mundial de saúde baseia-se no IMC (TABELA 1). A definição de obesidade mórbida segundo o IMC é determinada se o valor obtido por este índice for igual ou superior a 40, embora existam estudiosos que utilizam o termo superobesidade para os casos cujo IMC é superior a 50. (14).

TABELA 1: Classificação sobrepeso e obesidade de acordo com o IMC segundo a OMS (1997)

CATEGORIA	IMC
BAIXO PESO	INFERIOR A 18,5
SAUDAVEL	18,5 A 24,9
SOBREPESO	25 A 29,9
OBESIDADE GRAU I	30 A 34,9
OBESIDADE GRAU II	35 A 39,9
OBESIDADE GRAU III	IGUAL OU SUPERIOR A 40

Dois tipos básicos de distribuição da gordura corporal em pessoas obesas têm sido descritos: a obesidade andróide (central) e a obesidade ginecóide (gluteofemoral). Um método útil para distinguir o tipo de obesidade é a razão da cintura/quadril (12,15).

De modo simplificado, a obesidade ocorre como resultado do desequilíbrio entre a energia gasta e a ingestão calórica diária. Embora as causas deste desequilíbrio não sejam totalmente compreendidas, vários mecanismos e fatores têm sido propostos. Entre eles se destacam: (a) mecanismos de ordem genética; (b) mecanismos fisiopatológicos; (c) fatores ambientais.

Entre os mecanismos admitidos como de ordem genética citam-se os distúrbios que constituem várias síndromes clínicas conhecidas e associadas à obesidade. São elas: Síndrome de Bardet-Biedl, caracterizada por obesidade, retinite pigmentosa, retardo mental e polidactilia; Síndrome de Simpson-Golabi-Behmel, caracterizada por obesidade, distúrbio facial, retardo mental, polisindactilia, má formação esqueléticas e viscerais; Síndrome de Cohen, caracterizada por obesidade, hipotonia muscular, retardo mental, deformidades esqueléticas, surdez; Síndrome de Carpenter, caracterizada por obesidade, polidactilia, braquidactilia e craniosinostose; Síndrome de Alstrom caracterizada por retinite pigmentosa, surdez, obesidade, diabetes mellitus e a Síndrome de Prader Willi, caracterizada por obesidade, retardo mental, hipogonadismo e deficiência de hormônio de crescimento (GH). Nessas síndromes os mecanismos genéticos são a causa primária. São distúrbios raros e nas pessoas afetadas, a obesidade pode ser moderada a grave (2,15).

Estudos animais e clínicos sugerem que mecanismos genéticos podem regular a ingestão de alimentos, modificar o gasto energético e controlar a distribuição de gordura. Estudos recentes mostram que um terço da variância no peso corporal em adultos resulta de influências genéticas (2). A influência genética pode estar também relacionada aos níveis e ações do produto do gen *Ob*, o peptídeo leptina, produzido nos adipócitos, placenta e recentemente identificado na mucosa gástrica, que sinaliza ao hipotálamo sobre os estoques de gordura corporal. Uma deficiência de leptina (gen *ob/ob*) ou um defeito no seu receptor (gen *db/db*) parece ser responsável pela obesidade nos camundongos com tais distúrbios. Uma rara mutação genética no gen *ob* que produz a leptina foi descrita em crianças com hipogonadismo e obesidade mórbida (16). Outros genes mutantes têm sido identificados como participantes na gênese da obesidade em casos específicos, como o gen da proteína Agouti (AGRP), o gen do receptor da melanocortina 4 (MC4R), o gen da proteína da unidade desacopladora (UCP1-3) (17,18).

Entre os mecanismos fisiopatológicos, o baixa consumo de energia tem sido proposto como uma das causas do ganho ponderal. Algumas pesquisas acreditam que o corpo tenta manter o ritmo metabólico dentro de um específico ponto de corte que pode ser controlado pelo sistema nervoso simpático e este nível pode ser mais elevado que o desejável em algumas pessoas (15). Também existem vários peptídeos gastrointestinais (como a colecistocinina, enterostatina, glucagon, mais recente a ghrelina, entre outros) e neurotransmissores que parecem influenciar na etiologia da obesidade e iremos detalhar adiante. Lesões ou estimulações nas regiões ventromedial e lateral do hipotálamo causam diminuição da saciedade ou aumentam o apetite, que se manifestam com hiperfagia, diminuição da atividade física e obesidade (15).

Entre os fatores ambientais, várias drogas como antipsicóticos, antidepressivos tricíclicos, insulina, glicocorticóides, sulfoniluréias, entre outros, têm sido associadas ao ganho de peso (2). Hiperfagia e dieta rica em lípidos estão associados à obesidade. Dietas hiperlipídicas têm baixo poder de saciedade e o conteúdo calórico da gordura é o dobro de calorias comparados a proteínas e carboidratos (15). O aumento da ingestão alimentar global, os tamanhos das porções, a disponibilidade de alimentos de alto conteúdo calórico e baixo poder sacietógeno associados ao sedentarismo, promovem um desequilíbrio energético e promovem sobrepeso e obesidade (2,15).

Em 1989 uma revisão de literatura que citou dois estudos longitudinais, demonstrou uma relação de causa e efeito entre baixos níveis sócio-culturais e obesidade (15).

Fatores culturais e étnicos também tem sido associados à obesidade. Por exemplo, a incidência de obesidade nos EUA é elevada em mulheres afro-americanos, nativas americanas e população latina (19). No Brasil, a miscigenação racial não permite tais conclusões.

Fatores psicológicos como depressão e baixa auto-estima podem exacerbar o consumo excessivo de alimentos. Psiquiatras caracterizam a compulsão alimentar como um distúrbio que pode ter contribuído com o desenvolvimento da obesidade em 20% a 30% dos casos de pacientes obesos (2). A obesidade pode ser o resultado de distúrbios psicológicos induzidos por dificuldades de ordem sexual, perda de entes próximos, alcoolismo em familiares, desordens familiares ou conjugais (15).

Estudos epidemiológicos americanos realizados pelo Nacional Center for Health Statistics (NCHS) e estudos na Grã-Bretanha mostraram o avanço das formas graves da obesidade nas últimas duas décadas. Nos Estados Unidos, através dos estudos National Health Examination Survey (NHES I), National Health and Nutrition Examination Survey- (NHANES II e NHANES III) verificou-se que em 1962, a prevalência da obesidade na

população geral era de 12,8%, aumentando para 14,5% em 1980 e atingindo a taxa de 22,5% em 1994 (19). Esse último percentual sobe para 55% se forem incluídos neste grupo aqueles indivíduos considerados sobrepeso.

Na Europa, a prevalência de obesidade foi estimada pelo estudo MONICA da Organização Mundial De Saúde (OMS) entre 1983 e 1986, e os números encontrados foram de 15% nos homens e 22% nas mulheres, com variabilidade entre os países pesquisados. A menor prevalência encontrada foi na Suécia, 7% em homens e 9% em mulheres e a maior na Lituânia, 22% em homens e 45% em mulheres (20). Na Inglaterra, entre 1980 e 1993, a população obesa aumentou em 50%(12). Os dados mais recentes de estudos individuais em países europeus sugerem que a prevalência da obesidade encontra-se entre 10 a 20% em homens e 10 e 25% em mulheres (12).

Na Ásia, o primeiro estudo conduzido para avaliar a prevalência de sobrepeso e obesidade foi realizado em 1985 na Tailândia e detectou-se que 2,2% dos homens e 3% das mulheres eram obesos e estes números têm mostrado tendência a aumento nas pesquisas mais recentes (21). No Japão, os dados da pesquisa de nutrição nacional conduzida pelo Ministério Japonês de Saúde e Bem Estar, mostraram que houve um aumento na prevalência da obesidade tanto em homens quanto em mulheres no período de 1976 a 1993 (12). Na China, a prevalência de obesidade foi estimada em 1,2% em homens e 1,64% em mulheres (22).

Os dados da população geral da Austrália e da Nova Zelândia em 1989 mostraram obesidade em 10 a 15% entre homens e mulheres (23). Na África, mesmo com dados fragmentados em algumas áreas, foi evidenciado que a obesidade existe, particularmente no sexo feminino, em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento. Nas Ilhas Maurício em 1992 foi detectada uma prevalência de obesidade de 5% em homens e 15% em mulheres (24). Em países do leste mediterrâneo (Kuwait, Emirados Árabes Unidos e na ilha de Chipre) foi encontrado, em estudo transversal entre 1990 e 1993, elevado número de obesos, principalmente mulheres, com valores maiores dos que os encontrados nos países industrializados, aproximadamente, 23% em homens e 34% em mulheres (25, 26).

No Brasil, um estudo realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 1974 mostrou que 16% dos adultos (7,6 milhões) tinham sobrepeso (27). Nesta ocasião, o problema da obesidade era praticamente inexistente na população masculina e até 1989, os percentuais de excesso de peso e obesidade, entre os homens, eram bastante inferiores àqueles observados para as mulheres (28). Em inquérito recente realizado pelo IBGE (2003), foi detectado um aumento de duas vezes na prevalência de sobrepeso entre os homens brasileiros (de 18,6% para 41%) e aumento de três vezes na prevalência de obesidade

entre os homens (de 2,8% para 8,8%) principalmente na faixa etária até os 50 anos de idade (29). Por outro lado, o excesso de peso e a obesidade entre mulheres cresceram 50% de 1974 a 1989 e mantiveram-se estáveis entre 1989 e 2003, com exceção da região Nordeste, onde persistiu o aumento do excesso de peso e obesidade entre as mulheres. Comparando os dados obtidos na região sudeste pelos pesquisas realizadas em 1989 e 1997, pode-se detectar uma redução significativa (de 13,2% para 8,2%) da prevalência da obesidade feminina na população de maior renda familiar enquanto na população de menor renda houve tendência oposta (aumento da prevalência de 11,6% para 15,0%) (30).

Até o momento não ha pesquisas feitas com o objetivo específico de avaliar a prevalência de obesidade mórbida. No inquérito feito no Brasil em 1997 a prevalência de indivíduos com índice de massa corporal (IMC) de 40 ou mais kg/m^2 foi de 0,2% em homens, 0,8% em mulheres e 0,5% nos dois sexos (30).

Estimativas dos custos da obesidade têm sido propostas e envolvem dados relacionados com custos diretos associados ao tratamento da obesidade e custos indiretos decorrentes da morbidade envolvida. Os custos econômicos da obesidade foram avaliados em vários países desenvolvidos e estão na faixa de 2 a 7% dos custos totais com cuidados com a saúde. O primeiro estudo realizado sobre o custo econômico da obesidade foi o de Colditz et al. (31). As doenças incluídas na estimativa de custo foram o diabetes mellitus, doença cardiovascular, hipertensão arterial crônica, colecistopatia e câncer de cólon e de mama. Os custos totais atribuíveis à obesidade e co-morbidades foram estimados em US\$39,3 bilhões no ano de 1986 nos Estados Unidos. Em 1994 foi publicado um trabalho estimando o custo nos Estados Unidos em 1990 de US\$ 68,8 bilhões, dos quais US\$ 45,8 bilhões foram devidos aos custos diretos com a obesidade e os US\$23,3 restantes foram estimados em função da produtividade perdida e mortalidade por doenças associadas à obesidade (32).

Os efeitos do excesso de peso na morbidade e mortalidade têm sido relatados por mais de 2000 anos. Hipócrates reconheceu que “morte súbita é mais comum nos obesos que magros” (12). As doenças associadas com excesso de peso são responsáveis por custos significativos no cuidado à saúde. Utilizando o estudo de Framingham, Peeters et al. (33) estimaram que mulheres com IMC maior ou igual a 30 perdiam 7,1 anos de vida e homens perdiam 5,8 anos de vida comparando-se a mulheres e homens não obesos. Um estudo estimou que entre 280.000 a 325.000 mortes podem ser atribuídas à obesidade anualmente nos Estados Unidos (12). No estudo das enfermeiras dos EUA (*Nurses's Health Study*) o risco de óbito aumentou progressivamente com o IMC maior que 29 (34).

Uma das co-morbidades associadas à obesidade é a doença cardiovascular. A obesidade predispõe o indivíduo a fatores de risco cardiovascular, incluindo hipertensão arterial, dislipidemia e intolerância à glicose. Estudos recentes sugerem que a obesidade é um fator de risco independente para a morbidade e mortalidade cardiovascular. O estudo de Framingham categorizou o peso corpóreo como o terceiro preditor mais importante da doença cardiovascular entre o sexo masculino, após idade e dislipidemia (35). Similarmente, nas mulheres, um estudo americano prospectivo publicado em 1990, encontrou correlação positiva entre o IMC e o risco de desenvolver a doença cardiovascular (12). A associação entre hipertensão e obesidade está bem documentada. No estudo NHANES II mostrou-se que a prevalência de hipertensão em adultos com sobrepeso é 2,9 vezes maior que a população com IMC dentro da normalidade (36). O risco de desenvolver hipertensão aumenta com a duração da obesidade, e a redução do peso leva à queda da pressão arterial. Razões para esta associação entre obesidade e hipertensão são os níveis elevados de insulina circulante com consequente resistência insulínica e retenção renal de sódio, resultando em elevação nos níveis pressóricos. Outros prováveis fatores etiológicos incluem renina plasmática elevada e aumento da atividade catecolaminérgica nos pacientes portadores de obesidade (15).

Associação positiva entre obesidade e o risco de desenvolver diabetes mellitus tipo 2 foi documentada em inúmeros estudos prospectivos e transversais. Comparando com indivíduos com IMC dentro da normalidade, pacientes obesos classe III têm um risco 18 e 13 vezes maior de desenvolver diabetes mellitus tipo 2, para homens e mulheres respectivamente (15). Estudos sobre a perda ponderal em pacientes com diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 mostraram que a redução de 10% a 15% do peso em pacientes diabéticos obesos resultou em melhoras significativas no controle glicêmico (37).

Uma série de estudos correlacionou a obesidade com a incidência de cânceres, particularmente aqueles dependentes de hormônios e os do trato gastrointestinal. Os riscos aumentados de câncer endometrial, ovariano, cervical e de mama foram documentados em mulheres obesas (especialmente nos casos de distribuição centrípeta da adiposidade) e de próstata em homens obesos (12,15). Homens e mulheres com IMC acima de 35 têm mortalidade aumentada para câncer de cólon (38).

A incidência de colecistopatias é significativamente maior nos indivíduos obesos. Os cálculos biliares podem ocorrer quatro vezes mais frequentemente em indivíduos obesos que em indivíduos não obesos. O risco é ainda maior se o padrão da obesidade for visceral.

Acredita-se que a supersaturação da bile com colesterol e a mobilidade reduzida da vesícula biliar sejam fatores subjacentes à formação de cálculos biliares (15).

Também a osteoartrose é mais prevalente em pacientes obesos, assim como distúrbios do sono, incluindo a apnéia do sono. Um terço dos portadores de apnéia de sono são obesos. Em casos severos de hipoventilação associada à obesidade (Síndrome de Pick Wick) ocorre hipertensão pulmonar e cor pulmonale, aumentando o risco de morte cardiovascular (2,12,15).

A obesidade está associada à irregularidade menstrual e infertilidade. Os fatores associados são a hiperinsulinemia e hiperandrogenismo que ocorrem nos indivíduos obesos e interferem no eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (15).

Outras co-morbidades associadas à obesidade são hiperuricemia, esteatose hepática, refluxo gastroesofágico, incontinência urinária, hipertensão intracraniana idiopática, insuficiência venosa periférica, distúrbios da imunidade e complicações durante a gestação (2).

Hormônios gastrointestinais e ingestão alimentar

Há muitas décadas vêm-se tentando entender os mecanismos que regulam a fome e a saciedade. Estudiosos postularam que a insulina estaria diretamente relacionada com a ingestão alimentar. Várias pesquisas foram realizadas para comprovar tal efeito, no entanto até o momento os resultados são contraditórios no que diz respeito às ações da insulina sobre o controle do consumo de alimentos (39, 40, 41).

O sistema nervoso central recebe múltiplos estímulos que influenciam a ingestão de alimentos. São estímulos visuais, auditivos, olfatórios e são processados antes mesmo da ingestão alimentar. A fase cefálica da resposta à ingestão de alimentos consiste em aumentar a salivação e na secreção de hormônios gastrointestinais (42). Estudos já demonstraram que existe diferença na resposta cefálica da ingestão alimentar entre indivíduos magros e obesos, no entanto esta diferença não está totalmente entendida (43).

A colecistocinina, cuja síntese ocorre em todo o trato gastrointestinal e principalmente no duodeno e jejuno, é rapidamente liberada em resposta à presença de nutrientes no trato gastrointestinal. Atua diminuindo o esvaziamento gástrico e estimulando a motilidade intestinal. Em 1980 foi observada, com a administração da colecistocinina em humanos e

animais, uma inibição na ingestão alimentar, reduzindo o tamanho e duração das refeições (44). Esse efeito parece ser mediado via receptor da colecistocinina no nervo vago e núcleo arqueado do hipotálamo (45). No entanto a administração contínua é ineficaz em reduzir a ingestão após as primeiras 24 horas, demonstrando um efeito de curta regulação da fome e saciedade deste peptídeo. Também em estudos experimentais, houve aumento compensatório do número de refeições após a administração da colecistocinina (45).

O PYY pertence à família dos peptídeos PP composta do peptídeo pancreático e do neuropeptídeo Y, um potente orexígeno central. O PYY é secretado principalmente na porção distal do trato gastrointestinal, resultando em aumento da saciedade. A ingestão alimentar resulta na liberação do PYY destas células e os níveis séricos atingem um pico uma a duas horas após e parece que este pico depende do número de calorias ingeridas e da composição do alimento ingerido (45).

A Oxintomodulina e o peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1) são produtos do gen preproglucagon, que são expressos nas células L do intestino delgado e pâncreas. Esses dois peptídeos são rapidamente liberados após a ingestão alimentar e parecem afetar o controle a curto prazo da saciedade. Inibem o esvaziamento gástrico em humanos e suprimem o apetite e consumo de alimentos com a administração periférica em humanos normais e em portadores de diabetes mellitus (45).

A apolipoproteína A-IV é produzida no fígado e intestino delgado e é incorporada a quilomicrons e lipoproteínas. Sua síntese é estimulada pela absorção de lípidos e sua ação consiste em inibir a ingestão alimentar atuando em receptores no sistema nervoso central (45).

A enterostatina é um pentapeptídeo derivado da digestão da procolipase pancreática no lúmen intestinal. A síntese da procolipase é estimulada por dietas hiperlipídicas. A enterostatina inibe a ingestão alimentar, em particular de lípidos (45).

A leptina é o peptídeo de 146 aminoácidos, produto do gen Ob. Sua concentração sérica se deve à produção nos adipócitos e parece que está relacionada ao controle a longo prazo da saciedade, inibindo a ação do neuropeptídeo Y (NPY) e da proteína Agouti (AGRP), orexígenos hipotalâmicos (46) Estudos sugerem que age interagindo sinergicamente com a colecistocinina. Os níveis séricos de leptina caem dramaticamente durante o jejum e elevam-se com quatro a cinco horas de alimentação (45,47).

Ghrelina

No final de 1970, num esforço de desenvolver um narcótico menos potente, foi detectado um análogo de encefalina que possuía fraca atividade estimuladora da liberação do hormônio de crescimento (GH), e desta forma iniciaram-se várias pesquisas com outros secretagogos de GH e ainda, a caracterização do hormônio estimulador da secreção do GH (GHRH) em 1982, despertou outro foco de pesquisa (48). O receptor de secretagogo de GH (GHS-R) foi identificado por Smith et al. (49) em 1996 e em 1999 Kojima et al. (4) adotando estratégia de receptor órfão descobriu um ligante endógeno desse GHS-R e monitorou as mudanças intracelulares da concentração de cálcio em extratos de diferentes tecidos de roedores (cérebro, pulmão, coração, rins, intestino e estômago), após a ligação dessa substância ao GHS-R. Inesperadamente a mais alta atividade foi encontrada no estômago dos ratos e foi então purificado o peptídeo de 28 amino-ácidos. O peptídeo foi nomeado ghrelina, de *ghre*, prefixo indo-europeu que significa crescimento, referência da ação deste hormônio sobre o GH.

Após análise da estrutura química da ghrelina constatou-se que o grupo *acyl*, na porção serina 3 é necessário para a atividade biológica do peptídeo (10, 50). A ghrelina humana difere do rato apenas por dois aminoácidos e circula com uma concentração plasmática de aproximadamente 150 fmol/ml (50).

Células produtoras de ghrelina estão presentes de forma mais abundante na mucosa oxíntica do estômago. Date et al. em 2000 (8) e posteriormente Dornoville et al.(9) identificaram células na mucosa gástrica de humanos, imunorreativas à ghrelina semelhantes ao tipo A dos ratos e semelhantes à célula X nos cães, e por isso as nomeou de células “A/X-like”. Através de métodos de imuno-histoquímica foi verificado que as células A/X-like correspondem a 20% das células endócrinas da mucosa oxíntica de humanos. Os 80% restantes são constituídos por células ECL, produtoras de histamina (60%), células D produtoras de somatostatina (15%) e células EC, produtoras de serotonina (5%). Um outro estudo realizado por Rindi et al. (51) questionou a identificação estrutural das células imunorreativas à ghrelina e utilizando métodos de hibridização e microscopia eletrônica caracterizou as células imunorreativas à ghrelina em humanos como células com grânulos arredondados, compactos, semelhantes às células tipo pulmonares (P)/D1, cujo produto de secreção nunca havia sido identificado e que correspondem a 20% das células da mucosa oxíntica, ao contrário das células X que em humanos correspondem a menos de 1% .

As células secretoras de ghrelina podem ser do tipo abertas ou fechadas em relação ao lúmen glandular. Na mucosa gástrica predominam as células do tipo fechadas e provavelmente respondem ao estímulo mecânico de distensão gástrica (50).

Em experimentos com ratos, removendo-se a parte produtora de ácido do estômago, houve queda de aproximadamente 80% da ghrelina circulante, confirmando que a mucosa oxíntica é a maior fonte de produção da ghrelina plasmática (10). Infusão de gastrina ou hipergastrinemia induzida pelo inibidor de bomba de prótons omeprazol não afetou os níveis de ghrelina sérica, ou os níveis de RNAm para ghrelina (50). Isso sugere que, ao contrário de outras células endócrinas, a célula secretora de ghrelina não sofre influência da gastrina. No entanto há estudos que mostraram que a ghrelina estimula a secreção ácida e a motilidade gastrointestinal em roedores e os níveis de ghrelina circulantes são correlacionados com o esvaziamento gástrico em humanos (10,49).

Um estudo feito em 2003 por Gokcel et al. (52) mostrou que os pacientes *Helicobacter pylori* positivos não apresentavam níveis de ghrelina sérica mais altos que os controles e estudo de Nwokolo et al.(53) evidenciou que após a erradicação da bactéria *Helicobacter pylori* (Hp) ocorria aumento significativo dos níveis séricos de ghrelina. Em 2005, Osawa et al. (54) estudaram a densidade das células imunorreativas à ghrelina e os níveis séricos desse peptídeo em pacientes com e sem Hp presente na mucosa gástrica. No grupo Hp positivo os níveis séricos e a densidade das células imunorreativas à ghrelina foram menores que o grupo Hp negativos.

Em humanos ocorre aumento dos níveis séricos de ghrelina durante o jejum e há um ritmo de secreção diurno semelhante ao ritmo do GH, com aumento ao longo do dia e um pico entre 0.00 e 2.00 horas (50). Elevação nos níveis circulantes de ghrelina em relação à idade foi observado em ratos, porém não confirmado ainda em humanos (55). Estudos recentes no entanto, indicam que a secreção de ghrelina diminui com a idade durante o período da infância (56). No que diz respeito às concentrações séricas de ghrelina em homens e mulheres, os estudos são contraditórios. Prunel et al. (57) e Broglio et al. (58) demonstraram não existir diferença entre os sexos, no entanto Barkan et al. (59) detectaram elevações nos níveis séricos de ghrelina em mulheres quando comparadas aos níveis séricos de ghrelina nos homens estudados.

O efeito da ghrelina sobre a liberação do GH parece que ocorre sinergicamente com o GHRH e infusão endovenosa de ghrelina levou ao aumento das concentrações séricas de prolactina, ACTH, cortisol e aldosterona e a redução nos níveis de TSH, porém os mecanismos ainda não foram esclarecidos (10). A relação entre ghrelina e insulina permanece

controversa. Há evidências de que possa ocorrer uma contra-regulação entre os dois hormônios. A administração de insulina reduz as concentrações de ghrelina e vice-versa (50). No entanto Caixas et al. (60) demonstraram que doses fisiológicas de insulina não suprimiam a secreção de ghrelina em humanos. Foi demonstrada expressão de ghrelina nas células α e β pancreáticas principalmente no pâncreas fetal e estudos experimentais demonstraram que a ghrelina estimulou a secreção insulínica em ratos normais e diabéticos (61, 62) .

Em experimentos com roedores a administração aguda de ghrelina levou ao aumento do apetite e a administração crônica levou ao ganho de peso (50). Wren et al. (63) utilizando voluntários observaram aumento de 28% no consumo médio de calorias após infusão endovenosa de ghrelina na dose de 5 pmol/kg/minnestes indivíduos.

A expressão da ghrelina foi encontrada num grupo de neurônios adjacentes ao terceiro ventrículo entre o núcleo dorsal, ventral, paraventricular e arqueado que sabidamente produzem e liberam neurotransmissores orexígenos, principalmente o neuropeptídeo Y (NPY), proteína Agouti (AGRP), hormônio concentrador de melatonina (MCH). Até o atual conhecimento, foi visto que as vias hipotalâmicas são os mediadores da influência da ghrelina no balanço energético, através de receptores de secretagogos do hormônio de crescimento (GHS) do tipo 1a. Uma dessas vias envolve os neurônios de NPY e outra via envolve receptores de melanocortina e seus ligantes agonistas e antagonistas, respectivamente α -melanocortina (α -MSH) derivado do produto de clivagem proteolítica da proopiomelanocortina (POMC) e o orexígeno AGRP. A ghrelina eleva as concentrações de AGRP e NPY após sua administração aguda e crônica e a expressão hipotalâmica do AGRP está exacerbada após a ativação crônica por várias semanas pela ghrelina. Dessa forma configura-se um efeito crônico da ghrelina através do AGRP, enquanto que o NPY estaria envolvido na ação aguda da ghrelina. Outros possíveis mediadores da ação da ghrelina no hipotálamo seriam a inibição do POMC, do transcrito regulado por cocaína e anfetamina (CART), do fator de crescimento neurotrópico ciliar e ativação de hipocretinas, do ácido gama-aminobutírico (GABA) e da galanina (10).

Alguns estudos evidenciaram que a ação da ghrelina pode ser mediada pela via aferente do nervo vago. Foi demonstrado que o bloqueio vagal aferente aboliu o estímulo à alimentação induzida pela ghrelina. Este estudo sugere que a via aferente vagal é o principal veículo dos sinais da ghrelina na secreção de GH e ingestão alimentar (64, 65). Banks et al.(66) descreveram que ocorre transporte de pequenas quantidades de ghrelina através da barreira hematoencefálica e estudo de Beaumont et al.(67) relataram que a ghrelina sérica se liga à lipoproteína HDL associada a uma paroxonase, facilitando seu transporte plasmático.

Cummings et al. (68) evidenciaram um aumento pré prandial dos níveis séricos de ghrelina (média de 78%), sugerindo um papel na iniciação das refeições. Neste estudo também foi demonstrada uma diminuição dos níveis séricos de ghrelina uma hora após a refeição. Em estudos posteriores com pacientes obesos os níveis plasmáticos de ghrelina pré prandiais eram inferiores aos dos pacientes não obesos e o estudo de English et al. evidenciaram que os níveis plasmáticos da ghrelina caíram 39,5%, 30min após a refeição e que não houve mudanças nos níveis séricos da ghrelina após a refeição em pacientes obesos (6, 69).

A perda de peso pela dieta foi associada a elevação nos níveis séricos de ghrelina (aumento médio de 24%) (70). Em pacientes submetidos à cirurgia de by-pass gástrico, os níveis plasmáticos de ghrelina mantiveram-se significativamente mais baixos que os pacientes que perderam peso com a dieta ou com outros procedimentos cirúrgicos, sugerindo que o sucesso deste tipo de tratamento cirúrgico para obesidade severa talvez seja em parte resultado da exclusão da região gástrica produtora da ghrelina (71,72,73). No entanto, estudos mais recentes relatam aumento gradual dos níveis de ghrelina sérica após um período tempo mais prolongado após procedimentos cirúrgicos, mesmo quando é realizada a gastrectomia, podendo-se pensar que outros tecidos produtores de ghrelina possam compensar a ausência do estômago nestes casos (10).

Os efeitos dos macronutrientes da dieta sobre os níveis plasmáticos da ghrelina foram estudados em diversos experimentos. A distensão gástrica com solução salina não provocou alterações na ghrelina, enquanto que com a solução de glicose a 50% levou a redução dos níveis séricos da ghrelina (50, 74). Uma dieta hipolipídica (15% de lípidos) não afetou os níveis séricos de ghrelina em 24 horas quando comparada com os controles em dieta isocalórica e normolipídica, porém verificou-se uma redução na liberação da ghrelina pós prandial naqueles com dieta hipolipídica (75).

Tshop et al. mostraram que a ghrelina não apenas estimula o ganho de peso em roedores, mas também induz a adiposidade (76). Injeções subcutâneas diárias de ghrelina levaram ao aumento da massa gorda (tecido adiposo), e não afetaram a massa magra ou massa óssea, dados obtidos por densitometria óssea. Houve ainda aumento no quociente respiratório (volume de oxigênio consumido e do CO₂ produzido). Estes achados sugerem que a administração de ghrelina leva a preferencialmente a glicólise e favorecendo a deposição de gordura (10).

Pacientes portadores da Síndrome de Prader Willi (SPW), condição conhecida de obesidade hipotalâmica, apresentam elevados níveis séricos de ghrelina quando comparados com indivíduos com IMC saudável, assim como a densidade das células imunorreativas à ghrelina está aumentada na mucosa oxíntica destes pacientes (77, 78, 79). Embora a etiologia genética da SPW não explique o papel patogênico da ghrelina, mecanismos indiretos como a hipoinsulinemia e a deficiência de GH nestes casos podem responder pela hiperghrelinemia e suas consequências. No entanto, estudo com administração de análogos de somatostatina, conhecido inibidor da grande maioria dos peptídeos gastrointestinais e outros hormônios, determinou redução do peso nos pacientes portadores desta síndrome (80).

Além da hiperinsulinemia, achado frequente nos pacientes obesos, estudos sugerem que exista um sinal derivado dos adipócitos que levaria à um ajuste adaptativo da secreção de ghrelina com redução dos níveis séricos nos obesos. Estudos no receptor mutante de leptina em ratos Kuzer, ratos com receptor db/db e ratos ob/ob sugerem que a leptina possa não ser esse sinal, pois os níveis de ghrelina nesses ratos obesos são baixos quando comparados com controles magros, indicando que a ativação do receptor de leptina ao nível das células secretoras de ghrelina não seja o sinal crucial e que outras adipocinas possam ser um dos responsáveis pelos níveis mais baixos de ghrelina na obesidade (10).

Embora já tenha sido descrito que os níveis séricos de ghrelina estão elevados em condições com baixo IMC como anorexia nervosa, câncer e caquexia cardíaca, a existência de uma síndrome de resistência à ação da ghrelina nessas situações ainda não foi estabelecida (10, 81, 82).

Estudos morfológicos pelo método de imuno-histoquímica em pacientes com diagnóstico de câncer folicular de tireóide, câncer de próstata, câncer pulmonar e carcinóides do trato digestório, mostraram presença de células imunorreativas à ghrelina nesses tumores, assim como em aéreas de hiperplasia de células argirófilas na gastrite atrófica do corpo gástrico (10, 83, 84). Foi sugerido desta forma, um papel modulador da ghrelina na proliferação celular.

Mucosa gástrica

A mucosa gástrica humana pode ser dividida em três regiões: a mucosa cárdica, na junção esofago-gástrica, cuja função ainda é desconhecida, a mucosa oxíntica (fundo gástrico

ou corpo), a mais extensa e rica em células parietais responsáveis pela secreção de ácido, e a mucosa antral caracterizada pela presença de glândulas mucosas.

A mucosa cárdica possui glândulas mucosas, tipo antrais, frequentemente com presença de numerosas células parietais ou mesmo glândulas do tipo oxínticas.

A mucosa oxíntica possui muitos tipos celulares, entre elas a célula parietal, responsável pela produção de ácido que é secretada na luz do estômago, e de considerável importância nos mecanismos digestórios locais.

A mucosa antral é constituída quase que exclusivamente por glândulas mucosas que se abrem na luz através de foveolas longas e revestidas por epitélio mucoso que também secretam mucinas neutras.

Do mesmo modo que a mucosa intestinal, a mucosa gástrica é rica em numerosas células endócrinas, principalmente no fundo gástrico. No final de década de 60, com o isolamento dos primeiros hormônios gastrointestinais e a produção de anticorpos para os mesmos, iniciou-se a utilização e aperfeiçoamento de métodos imuno-histoquímicos para a identificação dos diferentes hormônios nos tipos específicos de células endócrinas. Pearse verificou, estudando essas células, que elas eram capazes de descarboxilar o L-5-hidroxitriptofano e L-diidroxifenilalanina em suas aminas serotonina e dopamina respectivamente, e passou a agrupá-las em um grupo denominado *Amine Precursors Uptake and Descarboxilation* (APUD) (85).

Entre os mamíferos, as células endócrinas do sistema digestivo estão distribuídas ao longo da mucosa gastrointestinal, no pâncreas e vias biliares. As células endócrinas mais bem conhecidas são as antrais, onde ocorrem três tipos de células endócrinas, são elas: células G, produtoras de gastrina, as células D produtoras de somatostatina e as células EC, que produzem serotonina. As células da mucosa cárdica têm sido pouco estudadas e dados recentes têm demonstrado que a maioria delas são constituídas por células *enterocromafim* (EC) produtora de serotonina. A mucosa oxíntica, apesar de sediar numerosas células endócrinas, não se conhece bem todos os tipos existentes, assim como o papel dessas células. A célula predominante é *Enterochromaffin-like* (ECL), que não mantém contato com a luz glandular, e é muito sensível a gastrina, respondendo num primeiro momento com aumento da atividade da enzima formadora de histamina, a histidina descarboxilase e, num segundo momento, com hiperplasia celular. As células ECL podem ser facilmente identificadas através das características estruturais de suas vesículas de secreção, que geralmente são grandes (86).

A análise ultraestrutural, quantitativa e qualitativa da mucosa oxíntica humana, através da microscopia eletrônica, evidencia população heterogênea de células endócrinas,

classificadas de acordo com seus grânulos de secreção. As células ECL foram as mais freqüentemente encontradas (30 a 40%), seguidas pelas células P (20 a 30%), seguidas pelas células D (20 a 25%). As células *A like* constituem 13% do total das células endócrinas da mucosa oxíntica (86). Na impossibilidade de demonstrar com precisão essas células e suas características específicas, muitos autores têm utilizado metodologia e critérios que dão números aproximados desses elementos. Aplicando-se a imuno-histoquímica (cromograninaA) ou o método da prata (Grimelius) que detecta células argirófilas (Arg) obtém-se o número total de células endócrinas da mucosa, do qual se subtrai o número de células imunorreativas à serotonina e somatostatina, considerando a diferença como o número de células ECL (87).

Na mucosa antral ocorrem três tipos de células endócrinas, que podem ser caracterizadas à microscopia eletrônica ou pela imunocitoquímica. São as células G, produtoras de gastrina, que compõem cerca de 60% das células endócrinas antrais, as células D, produtoras de somatostatina, cuja distribuição é mais irregular e as células EC produtoras de serotonina, menos numerosas. A gastrina é o principal peptídeo da mucosa gástrica que regula a secreção ácida em suas três fases: cefálica, gástrica e intestinal e estimula a proliferação dos componentes da mucosa do corpo gástrico.

OBJETIVOS

OBJETIVOS DO TRABALHO

1. Estudar as alterações histopatológicas da mucosa gástrica, em pacientes portadores de obesidade mórbida, enfatizando-se a presença e características da gastrite e a presença do *Helicobacter pylori*;
2. Estudar a densidade da população de células endócrinas em geral e das células produtoras de ghrelina em particular, na mucosa gástrica da região antral e oxíntica de pacientes portadores de obesidade mórbida, tendo como controles pacientes dispépticos funcionais, não obesos.

PACIENTES E MÉTODOS

PACIENTES E MÉTODOS

Pacientes

Cinquenta (50) pacientes portadores de obesidade grave (2 pacientes classe II e 48 pacientes classe III de obesidade) que foram selecionados para cirurgia bariátrica, em acompanhamento no Instituto Alfa de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UFMG, e que foram submetidos à endoscopia digestiva alta (EDA), como exame pré operatório, segundo indicação do médico assistente.

Cinquenta (50) pacientes não obesos (IMC<30) que foram submetidos à EDA no Instituto Alfa de Gastroenterologia por queixas dispépticas, com idade e sexo semelhantes ao grupo de pacientes obesos.

Foram excluídos do estudo os indivíduos com úlcera péptica em atividade e anemia perniciosa, condição sabidamente conhecida que acarreta hiperplasia de células endócrinas.

Os pacientes envolvidos neste estudo assinaram um termo de consentimento e livre esclarecido.

O projeto de pesquisa assim como o termo de consentimento foram aprovados pelo Comitê de ética em pesquisa da UFMG- parecer no. ETIC114/03

Endoscopia Digestiva Alta

Todos os exames endoscópicos foram realizados no Instituto Alfa de Gastroenterologia. Os aparelhos utilizados foram os endoscópios da marca Fujinon e Olympus, utilizando pinça padrão para biópsia endoscópica. Foi utilizado anestésico Midazolam 2,5 mg endovenoso para facilitar a introdução do endoscópio.

No grupo dos obesos foram colhidos fragmentos da mucosa cárdica (junção esófago-gástrica), parede posterior do corpo, região média da grande curvatura, região proximal da pequena curvatura, do antro gástrico proximal e distal, conforme protocolo adotado pelo serviço de Endoscopia Digestiva do Instituto Alfa de Gastroenterologia. Os fragmentos da mucosa cárdica não foram utilizados neste estudo.

No grupo dos não obesos foram colhidos fragmentos da mucosa oxíntica (parede posterior e região proximal da pequena curvatura) e do antro proximal e distal.

Colorações para estudo histológico

Os fragmentos foram fixados em formol tamponado, lavados em álcool 70% e mantidos nesta solução por 18 a 24 horas até o início do processamento para inclusão em parafina. Para inclusão em parafina os fragmentos foram orientados manualmente para melhorar a obtenção dos cortes histológicos contendo toda a espessura da mucosa.

Os blocos de parafina contendo o material obtido das biópsias foram cortados com 4 µm de espessura. Para a fixação dos cortes na lâmina foi utilizado fixador à base de albumina para as técnicas de HE, Giemsa e Grimelius e um ultra fixador com Poli-N-Lisina (1:10-SIGMA-ALDRICH CO. USA) em lâminas para a técnica de imuno-histoquímica.

Todas as lâminas foram rotuladas de acordo com os registros padronizados no Instituto Alfa e no LPDN.

Em todos os fragmentos foram procedidas colorações pelo HE para avaliação histopatológica e seleção de cortes que incluíssem toda a espessura da mucosa para estudo morfométrico.

Para o estudo da distribuição das células endócrinas presentes na mucosa oxíntica e antral, utilizou-se a técnica de Grimelius (87). Resumidamente, os cortes foram tratados com solução de nitrato de prata a 0,08% em tampão acetato 0,02M, pH 5,6 por 3 horas a 60°. Após este período os cortes foram submersos numa solução reveladora constituída de hidroquinona e sulfito de sódio anidro (5,0g) em 100ml de água destilada por dois minutos, a 60° com controle microscópico.

Para estudo da distribuição das células imunorreativas à ghrelina utilizou-se o método da imunoperoxidase indireta e anticorpo policlonal específico (anticorpo anti ghrelina-PHOENIX, USA). O método consta de várias etapas:

1. Tratamento dos cortes histológicos em solução de tampão citrato pH 6,0 aquecido em Steamer (potência alta) por 15 minutos e resfriamento posterior em temperatura ambiente por 40 minutos
2. Tratamento dos cortes histológicos em peroxidase de hidrogênio 30°
3. Tratamento dos cortes histológicos com anticorpo primário- Anticorpo anti ghrelina diluído 1:1000 (overnight)

4. Tratamento dos cortes histológicos com tampão fosfato 0,01M, pH 7,2 (PBS)
5. Tratamento dos cortes histológicos com anticorpo (Link)
6. Tratamento dos cortes histológicos com tampão PBS
7. Tratamento dos cortes histológicos com Steptavidina-biotina peroxidase
8. Tratamento dos cortes histológicos com tampão PBS
9. Três banhos consecutivos em tampão-fosfato 0,01M, pH 7,2 por cinco minutos cada e revelação em solução de diaminobenzidina (25mg%) em tampão fosfato 0,01M, pH 7,2 com 0,03% de H₂O₂ por quatro a cinco minutos, com controle ao microscópio;
10. Lavagem em tampão-fosfato 0,01M, pH 7,2 e contra coloração com hematoxilina diluída por 30 segundos, desidratação e montagem em bálsamo.

Avaliação histopatológica da mucosa gástrica

Todos os cortes foram corados pelo HE para o estudo histológico da mucosa. A avaliação da presença e intensidade de infiltrado inflamatório na mucosa oxíntica e antral através da coloração pelo HE foi feita considerando-se os seguintes aspectos: (a) presença de polimorfonucleares e mononucleares na lâmina própria, graduando-se a intensidade em discreta, moderada e intensa; (b) distribuição do infiltrado na mucosa (superficial ou toda a mucosa); (c) presença de metaplasia intestinal; (d) presença de sinais histológicos de atrofia glandular. A presença da bactéria *Helicobacter pylori* foi avaliada através de colorações pelo Giemsa.

Contagem das células argirófilas e imunorreativas à Ghrelina

O cálculo da densidade de células argirófilas e das células imunorreativas à ghrelina foi realizado através do programa KS 300 (Zeiss, Alemanha) utilizando-se microscopia de luz com captura de imagem com câmara AxioCam (Zeiss, Alemanha). Os cortes foram selecionados para a contagem seguindo rigoroso critério de qualidade da coloração e englobando toda a espessura da mucosa por seis (6) campos seguidos que continham 0,04 mm² cada no aumento de 400x. Foram descartados os cortes cuja coloração ficou

comprometida, impossibilitando a visualização adequada. A contagem foi realizada por dois observadores, duplo mascarado, seguindo um esquema único de contagem (figura 1).

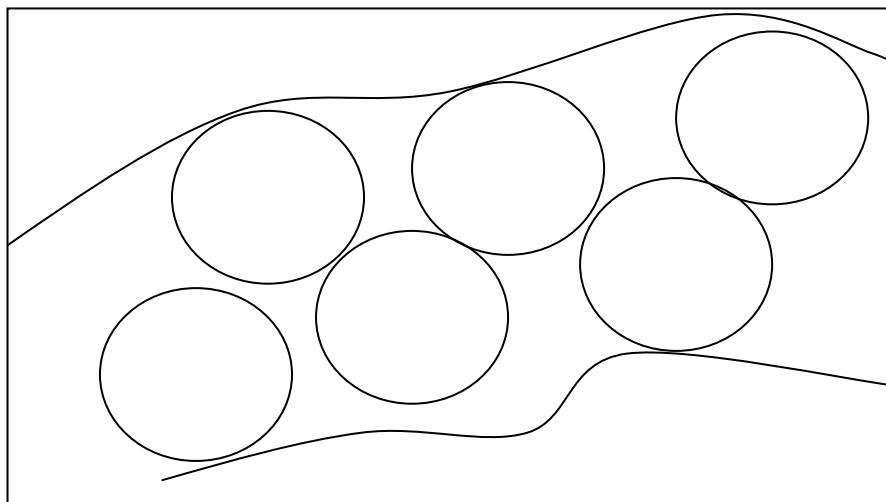


FIGURA 1: Esquema de contagem das células argirófilas e das células imunorreativas à ghrelina : Seis (6) campos seguidos de $0,04 \text{ mm}^2$ em toda a espessura da mucosa; Aumento de 400x

Avaliação das alterações hiperplásicas

Para a avaliação da presença e frequência das alterações hiperplásicas nas mucosas oxíntica e antral das células argirófilas e das células imunorreativas à ghrelina considerou-se a caracterização de hiperplasias conforme Solcia et al. (88) que propuseram a seguinte classificação: (a) Hiperplasia difusa: número de células duas vezes maior que o desvio padrão no grupo controle (b) Hiperplasia linear: sequência de células coradas na parede glandular. No presente trabalho consideramos o achado de 5 ou mais células coradas em sequência. (c) Hiperplasia nodular: pequenos nódulos de células coradas na lâmina própria. (d) Hiperplasia adenomatóide: toda a glândula formada por células endócrinas (figura 2).

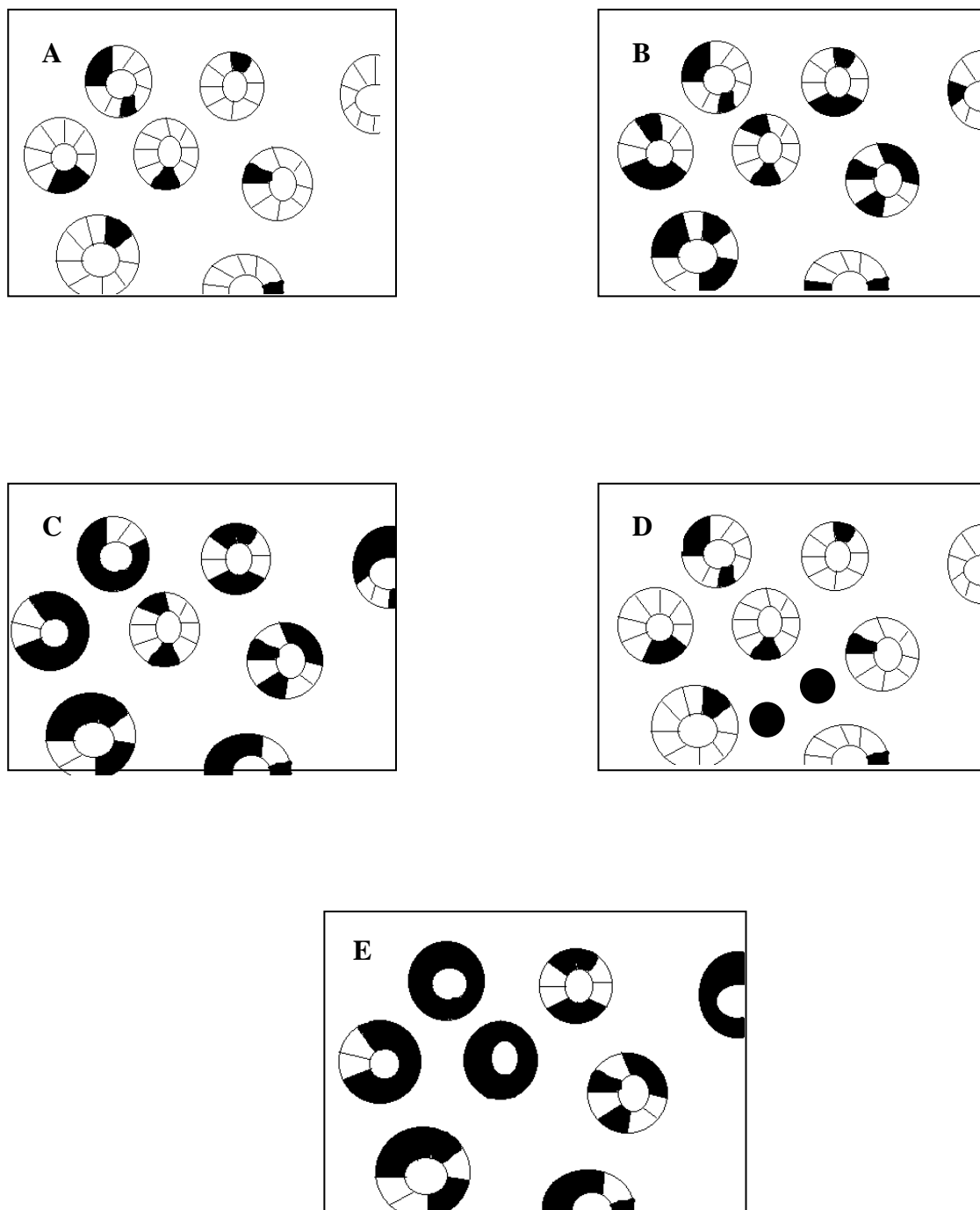


FIGURA 2: Esquema de células com distribuição normal e diferentes tipos de hiperplasias endócrinas da mucosa gástrica. A- Normal; B- Hiperplasia difusa; C-Hiperplasia linear; D- hiperplasia nodular; E- Hiperplasia adenomatóide.

Análise estatística

Para o armazenamento dos dados foi empregado o programa EPIDATA versão 3.1 e para a análise dos dados o programa estatístico EPIINFO versão 6.04 (2001). Para avaliação da diferença de frequências foi utilizado os teste Qui-quadrado e Fisher e para avaliação das diferenças entre variáveis utilizou-se o teste T de Student, e para análise de variância utilizou-se os testes de Kruskal-Wallis e ANOVA. Foi utilizado um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

RESULTADOS

Avaliação histológica da mucosa gástrica

O estudo histológico dos 50 pacientes portadores de obesidade, revelou:

1. Mucosa gástrica antral e oxíntica sem alterações histopatológicas relevantes (dentro da normalidade histológica) em 19 pacientes (38 %)
2. Gastrite antral ou predominantemente antral sem sinais de atrofia em 17 pacientes (34%)
3. Gastrite antral com sinais de atrofia em 3 pacientes(6 %)
4. Pangastrite crônica ativa sem evidências de atrofia glandular em 10 pacientes (20 %)
5. Pangastrite crônica em atividade e com sinais de atrofia glandular em 1 paciente (2 %) (tabela 2)

TABELA 2-Distribuição da frequência dos achados histológicos da mucosa gástrica de pacientes obesos e não obesos

Diagnóstico histológico	Obesos* n-50 (%)	Não obesos** n-50 (%)
Normal	19 (38%)	9 (18%)
Gastrite antral sem atrofia	17 (34%)	22 (44%)
Gastrite antral com atrofia	3 (6%)	5 (10%)
Pangastrite crônica ativa sem atrofia	10 (20%)	10 (20%)
Pangastrite com atrofia	1 (2%)	4 (8%)
Total	50 (100%)	50 (100%)

* IMC>35 ** IMC <30

$\chi^2 = 6,51$

p= 0,164

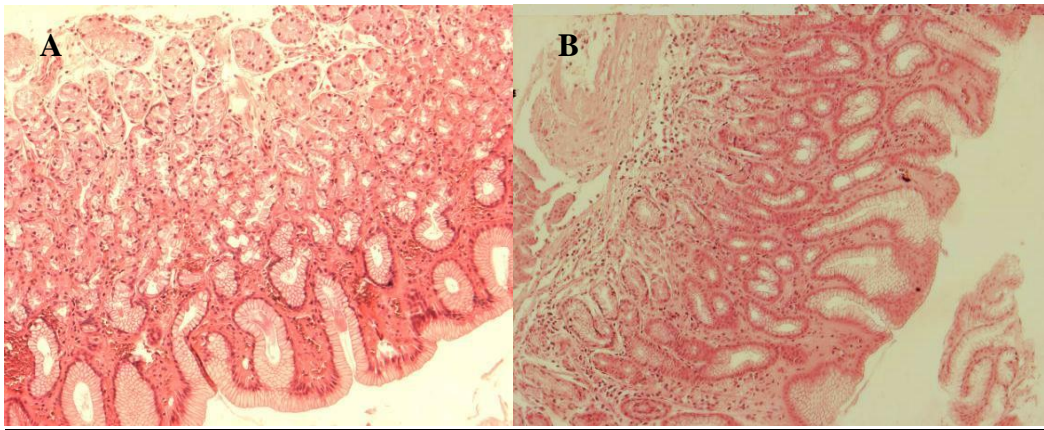


FIGURA 3: Mucosa gástrica de paciente portador de obesidade, sem alterações histológicas relevantes A-Corpo gástrico, B- Antro gástrico, HE, 50x

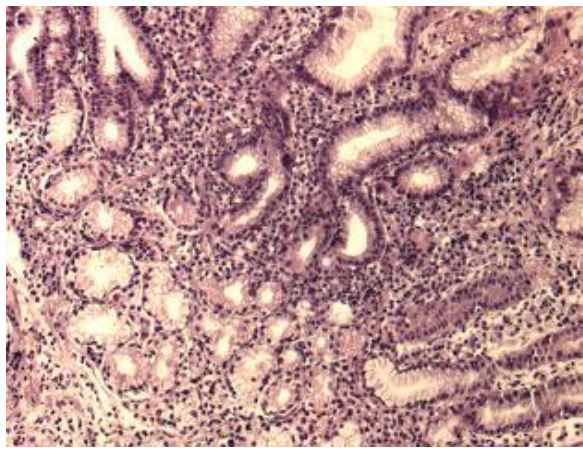


FIGURA 4: Mucosa gástrica de paciente portador de obesidade com infiltrado inflamatório. Gastrite crônica, HE, 50x

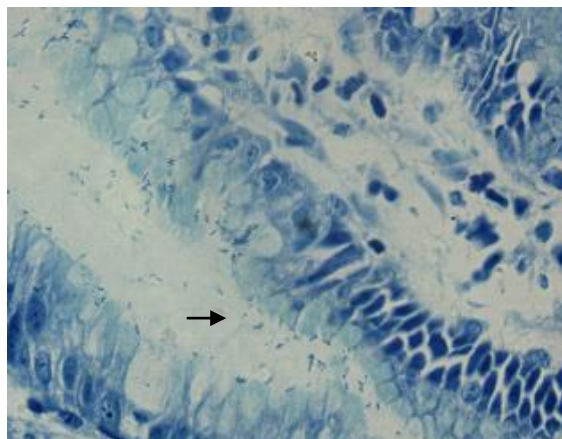


FIGURA 5: Presença da bactéria *Helicobacter pylori* nas fovélas gástricas. Giemsa, 100x

Avaliação da população de células argirófilas da mucosa gástrica

A média de células argirófilas (Arg) /mm² reveladas pelo método de Grimelius, foi de 225,61 ± 86,95 céls/mm² na mucosa oxíntica do grupo de pacientes portadores de obesidade mórbida, enquanto que no grupo nos pacientes com IMC <30 a média de células argirófilas (Arg) na mucosa oxíntica foi de 239,94 ± 67,67 céls/mm² (tabela 3). A média de células Arg/mm² na mucosa antral no grupo de pacientes portadores de obesidade mórbida, reveladas pelo método de Grimelius, foi de 212,24 ± 83,05 céls/mm² enquanto que a média de células Arg na mucosa antral no grupo com IMC <30 foi de 206,92 ± 70,67 céls/mm². A avaliação das densidades das células argirófilas nestas áreas não mostrou diferença significativa (tabela 4).

Em relação aos achados histopatológicos a densidade de Arg/mm² na mucosa oxíntica foi 231,05 ± 106,62 céls/mm² nos pacientes obesos com gastrite antral, 222,53 ± 69,48 céls/mm² nos pacientes com pangastrite, 225,70 ± 95,60 céls/mm² nos pacientes sem alterações histológicas. Nos pacientes não obesos, a densidade de Arg/mm² na mucosa oxíntica foi 221,83 ± 86,50 céls/mm² nos pacientes com gastrite antral, 240,62 ± 50,27 céls/mm² nos pacientes com pangastrite, 264,77 ± 83,29 céls/mm² nos pacientes sem alterações histológicas (tabelas 5 e 6).

Em relação aos achados histopatológicos a densidade de Arg/mm² na mucosa antral foi 206,16 ± 73,49 céls/mm² nos pacientes obesos com gastrite antral, 205,16 ± 81,01 céls/mm² nos pacientes com pangastrite, 219,78 ± 93,39 céls/mm² nos pacientes sem alterações histológicas. Nos pacientes com IMC <30, a densidade de células argirófilas/mm² na mucosa antral foi 184,08 ± 71,99 céls/mm² nos pacientes com gastrite antral, 206,64 ± 64,64 céls/mm² nos pacientes com pangastrite, 243,30 ± 78,66 céls/mm² nos pacientes sem alterações histológicas (tabelas 7 e 8).

Os resultados das densidades das células argirófilas de acordo com a distribuição por sexo (feminino ou masculino) nas mucosas oxíntica e antral dos cem pacientes e separadamente nos grupos obesos e não obesos estão expressos nas tabelas 9, 10, 11 e 12. Houve diferença estatisticamente significativa na densidade de células argirófilas na mucosa oxíntica de mulheres obesas e homens obesos, com número maior de células Arg /mm² no sexo feminino.

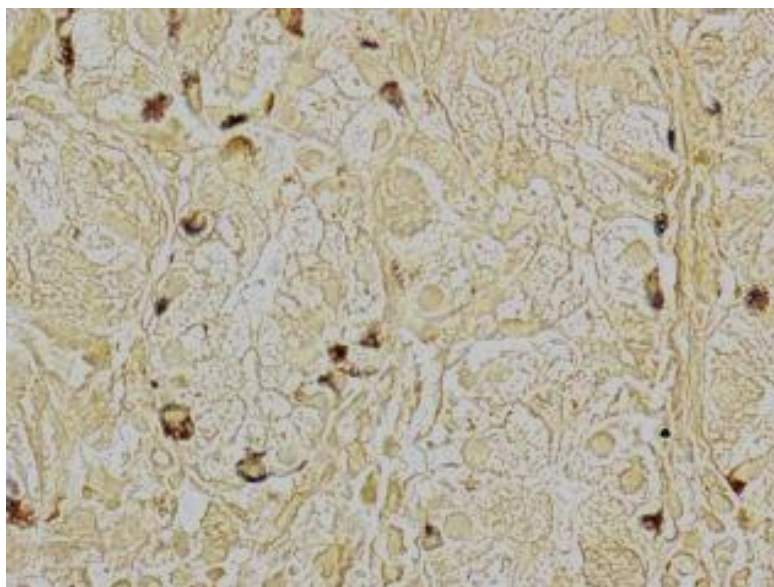


FIGURA 6: Células endócrinas (argirófilas) da mucosa oxíntica, Grimelius, 400x

TABELA 3- Densidade (cels/mm²) de células argirófilas na mucosa oxíntica dos pacientes obesos e não obesos.

	N	Densidade média (céls /mm ²)
Obesos	50	225,61 ± 86,95
Não obesos	49	239,94 ± 67,67
Total	99	

t=0.91

p=0.364

TABELA 4- Densidade (cels/mm²) de células argirófilas na mucosa antral de pacientes obesos e não obesos.

	N	Densidade- média (céls /mm ²)
Obesos	48	212,24 ±83,05
Não obesos	50	206,92±70,67
Total	98	

t=0,34

p=0,733

TABELA 5: Densidade (cels/mm²) das células argirófilas na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos nos pacientes obesos

Diagnóstico histológico	Densidade média (céls /mm ²)	
Normal	n=19	225,70±95,60
Gastrite antral	n=11	231,05±106,62
Pangastrite	n=20	222,53±69,48
Total	n=50	

ANOVA= 0,03

p=0,97

TABELA 6: Densidade (cels/mm²) das células argirófilas na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos nos pacientes não obesos

Diagnóstico histológico	Densidade média	Mediana	Amplitude
Normal	n=09 264,77±83,29	244,50	164,31- 389,43
Gastrite antral	n=13 221,83±86,50	192,05	117,36- 346,75
Pangastrite	n=27 240,62±50,27	240,05	140,03- 346,75
Total	n=49		

Kruskal-Wallis=1,80 p=0,41

TABELA 7: Densidade (cels/mm²) das células argirófilas na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes obesos

Diagnóstico histológico	Densidade média (cél/s /mm ²)
Normal	n=18 219,78 ± 93,39
Gastrite antral	n=11 206,19 ± 73,49
Pangastrite	n=20 205,16 ± 81,01
Total	n=49

ANOVA=0,16 p=0,849

TABELA 8: Densidade (cél/s /mm²) das células argirófilas na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes não obesos

Diagnóstico histológico	Densidade Média (cél/s /mm ²)	
Normal	n=09	243,30 ± 78,66
Gastrite antral	n=14	184,08 ± 71,99
Pangastrite	n=27	206,64 ± 64,64
Total	n=50	

ANOVA=2,00 p=0,146

TABELA 9- Densidade (cél/s /mm²) de células argirófilas na mucosa oxíntica em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média(cél/s /mm ²)
Feminino	71	238,67 ± 76,49
Masculino	28	217,56 ± 81,35
Total	99	

t=1,21

p=0,227

TABELA 10- Densidade (cél/s /mm²) de células argirófilas na mucosa oxíntica em pacientes obesos em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	39	238,68 ± 83,71
Masculino	11	179,31 ± 85,96
Total	50	

t=2,06 p=0,044

TABELA 11- Densidade (cél/s /mm²) de células argirófilas na mucosa oxíntica em pacientes não obesos em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	32	238,88 ± 67,77
Masculino	17	242,32 ± 69,95
Total	49	

t= 0,16 p=0,868

TABELA 12- Densidade (cél/s /mm²) de células argirófilas na mucosa antral em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	69	211,99 ± 73,01
Masculino	29	203,65 ± 85,72
Total	98	

t= 0,49 p=0,625

TABELA 13- Densidade (cél/s /mm²) de células argirófilas na mucosa antral em pacientes obesos em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	38	208,24 ± 76,23
Masculino	11	219,49 ± 106,41
Total	49	

t= 0,39 p=0,696

TABELA 14- Densidade (cél/s /mm²) de células argirófilas na mucosa antral em pacientes não obesos em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	32	214,21± 70,01
Masculino	18	193,97 ± 71,98
Total	50	

t= 0,97 p=0,336

Avaliação das células imunorreativas à ghrelina na mucosa gástrica

As células imunorreativas à ghrelina foram mais frequentemente encontradas na mucosa oxíntica e apresentaram-se escassas na mucosa antral (figura 7). A média de células imunorreativas à ghrelina (Ghr) /mm² na mucosa oxíntica foi de 102,58 ± 32,52 células/mm² para os pacientes portadores de obesidade mórbida (tabela 15), enquanto que no grupo nos pacientes com IMC<30 a média de Ghr na mucosa oxíntica foi de 92,80 ± 43,06 células/mm², não havendo portanto diferença estatisticamente significativa (tabela15). A média de células

imunorreativas à ghrelina na mucosa antral foi de $47,03 \pm 102,45$ céls/mm² para os pacientes portadores de obesidade mórbida enquanto que a média de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral no grupo nos pacientes com IMC<30, foi de $14,38 \pm 42,14$ céls/mm², e nesta região houve diferença estatisticamente significativa (tabela 16).

Em relação aos achados histopatológicos a densidade de Ghr/mm² foi $95,99 \pm 36,80$ céls/mm² nos pacientes obesos com gastrite antral, $81,53 \pm 22,93$ céls/mm² nos pacientes com pangastrite, $115,32 \pm 33,53$ céls/mm² nos pacientes sem alterações histológicas (Tabela 17), enquanto que os achados histopatológicos a densidade de Ghr/mm² na mucosa oxíntica foi de $83,95 \pm 40,24$ céls/mm² nos pacientes não obesos com gastrite antral, $88,32 \pm 42,91$ céls/mm² nos pacientes com pangastrite e $112,12 \pm 51,64$ céls/mm² nos pacientes não obesos sem alterações histológicas (tabela 18).

Na mucosa antral, a densidade de Ghr/mm² foi $78,67 \pm 160,72$ céls/mm² nos pacientes obesos com gastrite antral, $49,69 \pm 100$ céls/mm² nos pacientes com pangastrite e $20,59 \pm 34,05$ céls/mm² nos pacientes obesos sem alterações histológicas. Em relação aos achados histopatológicos a densidade de Ghr/mm² na mucosa antral foi $11,78 \pm 19,40$ céls/mm² nos pacientes não obesos com gastrite antral, $17,69 \pm 54,97$ céls/mm² nos pacientes com pangastrite e $7,41 \pm 12,57$ céls/mm² nos pacientes não obesos sem alterações histológicas. (tabelas 19 e 20)

Os resultados das densidades das células imunorreativas à ghrelina de acordo com a distribuição por sexo (feminino ou masculino) nas mucosas oxíntica e antral nos dois grupos e separadamente nos grupos obesos e não obesos estão expressos nas tabelas 21, 22, 23, 24, 25 e 26. Houve diferença estatisticamente significativa na densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica entre homens e mulheres nos dois grupos avaliados em conjunto e no grupo não obesos, com maior número de células no sexo feminino. Esse resultado não foi encontrado no grupo obeso avaliado separadamente. Na mucosa antral não houve diferença entre as densidades das células imunorreativas à ghrelina em relação ao sexo.

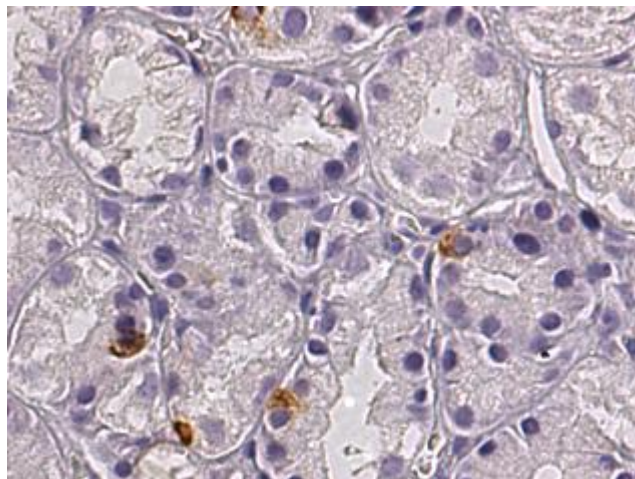


FIGURA 7. Células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica, Imunohistoquímica, 400x

TABELA 15: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica de pacientes obesos e não obesos

Pacientes	N	Densidade média	Mediana	Amplitude
Obesos	48	102,58 ± 32,52	98,14	46,68 - 186,71
Não obesos	49	91,44 ± 44,09	80,02	13,33 - 226,72
Total	97			

Kruskal-wallis=2,46 p=0,11

TABELA 16: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral de pacientes obesos e não obesos.

Pacientes	n	Densidade Média	Mediana	Amplitude
Obesos	48	47,03 ± 102,45	8,89	0,00 - 520,13
Não obesos	47	14,2 ± 42,16	4,44	0,00 - 271,18
Total	95			

Kruskal-Wallis=10,07 p=0.001

TABELA 17: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos em pacientes obesos

Diagnóstico histológico	Densidade média (cél/s /mm ²)	
Normal	n=19	115,32±33,53
Gastrite antral	n=11	95,99±36,80
Pangastrite	n=18	81,52±22,93
Total	n=49	

ANOVA=5,59 p=0,0067

TABELA 18: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica e relação com achados histológicos em pacientes não obesos

Diagnóstico histológico	Densidade média (cél/s /mm ²)	
Normal	n=9	112,12 ± 51,64
Gastrite antral	n=14	83,95 ± 40,24
Pangastrite	n=26	88,32 ± 42,91
Total	n=49	

ANOVA=1,27 p=0,289

TABELA 19: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes obesos

Diagnóstico histológico	Densidade média	Mediana	Amplitude
Normal	n=17 20,59 ± 34,05	7,78	0,00 - 128,83
Gastrite antral	n=10 78,67 ± 160,72	11,97	0,00 - 520,13
Pangastrite	n=20 49,69 ± 100,12	8,89	0,00 - 400,10
Total	n=47		

Kruskal-wallis=0,69 p=0,708

TABELA 20: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral e relação com achados histológicos em pacientes não obesos

Diagnóstico histológico	Densidade média	Mediana	Amplitude
Normal	n=9 7,41 ± 12,57	4,44	0,00 - 40,01
Gastrite antral	n=12 11,78 ± 19,40	4,89	0,00 - 69,35
Pangastrite	n=26 17,70 ± 54,97	0,00	0,00 - 271,18
Total	n=47		

Kruskal-wallis=1,52 p=0,467

TABELA 21: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica em relação ao sexo em todos os pacientes, obesos e não obesos.

Sexo	N	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	69	103,69 ± 39,85
Masculino	28	76,89 ± 29,02
Total	97	

t=3,22 p=0,001

TABELA 22: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica em pacientes obesos em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	38	102,36 ± 34,58
Masculino	10	82,47 ± 25,75
Total	48	

t=1,69 p=0,097

TABELA 23: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica em pacientes não obesos em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	31	101,68 ± 47,66
Masculino	18	73,81 ± 30,95
Total	97	

t= 2,22 p=0,031

TABELA 24: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral em relação ao sexo

Sexo	N	Densidade média	Mediana	Amplitude
Feminino	68	36,07 ± 89,43	5,55	0,00 - 520,13
Masculino	27	17,50 ± 47,32	4,44	0,00 - 224,05
Total	95			

Kruskal-Wallis=1,57 p=0,209

TABELA 25: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral em pacientes obesos em relação ao sexo

Sexo	N	Densidade média (cél/s /mm ²)
Feminino	36	48,18 ± 108,35
Masculino	11	36,01 ± 71,57
Total	47	

t=0,35 p= 0,729

TABELA 26: Densidade (cél/s /mm²) de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral em pacientes não obesos em relação ao sexo

Sexo	n	Densidade média	Mediana	Amplitude
Feminino	31	19,09 ± 51,29	4,44	0,00 - 271,18
Masculino	16	4,77 ± 6,59	2,22	0,00 - 22,23
Total	47			

Kruskal-Wallis=0,38 p= 0,538

Avaliação da presença da bactéria *Helicobacter pylori*

A presença bactéria *Helicobacter pylori* (Hp) foi constatada em 54 dos 100 pacientes estudados. A frequência do Hp no grupo obesos foi semelhante ao grupo não obesos, respectivamente, 50% e 62%.

A densidade das células endócrinas coradas pela prata (argirófilas) e das células imunorreativas à ghrelina foram avaliadas em relação à presença ou ausência do Hp em todos os pacientes estudados, bem como separadamente no grupo obesos e no grupo não obesos. Não houve diferença estatística entre o número de células argirófilas na mucosa oxíntica e antral em relação ao Hp. (TABELAS 27,28 29,30,31).

A densidade das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica foi significativamente maior entre os pacientes Hp negativos, tanto no total de pacientes estudados ($p=0,002$) quanto nos grupos de obesos ($p=0,026$) e não obesos ($p=0,0007$) avaliados separadamente. Na mucosa antral observamos diferença estatisticamente significativa apenas na densidade das células imunorreativas à ghrelina no grupo de não obesos, em que os pacientes Hp negativos mostraram-se com maior número de células/mm² que os pacientes Hp positivos. O mesmo resultado não foi observado no grupo de obesos. (TABELAS 32, 33, 34, 35, 36, 37)

TABELA 27: Densidade (céls /mm²) das células argirófilas na mucosa oxíntica versus infecção pelo *Helicobacter pylori*

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média (céls /mm ²)
Positivo	54	232,70 ± 76,85
Negativo	45	232,26 ± 80,90
Total	99	

$t=0.03$ $p=0.977$

TABELA 28: Densidade (cél/s /mm²) das células argirófilas na mucosa antral *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* (cels/mm2)

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Positivo	54	206,98 ± 70,62
Negativo	44	212,65 ± 84,16
Total	98	

t=0.36 p=0.72

TABELA 29: Densidade (cél/s /mm²) das células argirófilas na mucosa oxíntica *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Positivo	25	221,25 ± 87,63
Negativo	25	229,98 ± 87,84
Total	50	

t= 0,35 p=0,73

TABELA 30: Densidade (cél/s /mm²) das células argirófilas na mucosa oxíntica *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes não obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Positivo	30	239,83 ± 66,74
Negativo	19	240,46 ± 71,34
Total	49	

t=0,03 p=0,97

TABELA 31: Densidade (cél/s /mm²) das células argirófilas na mucosa antral *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Positivo	25	208,36 ± 77,17
Negativo	24	213,27 ± 89,25
Total	49	

t= 0,21 p=0,84

TABELA 32- Densidade (cél/s /mm²) das células argirófilas na mucosa antral *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes não obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	N	Densidade média (cél/s /mm ²)
Positivo	31	203,49 ± 64,68
Negativo	19	212,52 ± 81,06
Total	50	

t= 0,43 p=0,60

TABELA 33: Densidade (cél/s /mm²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori*

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade – média
Positivo	53	85,71 ± 35,42
Negativo	45	110,25 ± 41,24
Total	98	

t=3.17 p=0.002

TABELA 34: Densidade (cél/s /mm²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori*

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média	Mediana	Amplitude
Positivo	53	29,13 ± 71,82	4,44	0,00 - 520,13
Negativo	45	32,89 ± 90,01	5,99	0,00 - 400,10
Total	98			

Kruskal-Wallis =1,35 p=0.24

TABELA 35: Densidade (cél/s /mm²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade – média
Positivo	23	87,08 ± 30,01
Negativo	25	108,46 ± 34,19
Total	48	

t= 2,29 p= 0,026

TABELA 36: Densidade (cél/s /mm²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes não obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média (cél/s /mm ²)
Positivo	30	75,25 ± 34,22
Negativo	19	117,01 ± 46,57
Total	49	

t= 3,61 p=0,0007

TABELA 37: Densidade (céls /mm²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média	Mediana	Amplitude
Positivo	24	50,99± 93,45	9,78	0,00 – 400,00
Negativo	23	39,42 ± 108,91	7,78	0,00 – 520,00
Total	47			

Kruskal-Wallis =0,78 p= 0,37

TABELA 38: Densidade (céls /mm²) das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral *versus* infecção pelo *Helicobacter pylori* em pacientes não obesos

<i>Helicobacter pylori</i>	n	Densidade média	Mediana	Amplitude
Positivo	29	6,85 ± 17,92	0,00	0,00 - 93,35
Negativo	18	26,08 ± 63,55	4,44	0,00 - 217,18
Total	47			

Kruskal-Wallis=5,44 p=0,019

Avaliação das alterações hiperplásicas

Na avaliação qualitativa das células argirófilas e das células imunorreativas à ghrelina foram encontradas alterações hiperplásicas focais na mucosa oxíntica e antral em alguns pacientes do grupo obesos e do grupo não obesos (figuras 8 e 9).

Embora não se encontrassem diferenças estatisticamente significativas da densidade de células argirófilas entre os dois grupos de pacientes, em muitos deles, o exame das preparações histológicas, através de exame microscópico meticoloso, foi capaz de detectar a presença de tipos especiais de hiperplasia, principalmente a do tipo linear, na mucosa antral, que foi observada em 11 pacientes portadores de obesidade mórbida, significativamente maior que o observado no grupo de não obesos ($p < 0,01$) (TABELA 40). Resultado semelhante foi observado com relação às células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral, em que 10 pacientes portadores de obesidade mórbida apresentaram alguma forma de hiperplasia, enquanto somente 1 paciente não obeso apresentou hiperplasia de forma difusa na mucosa antral, diferença essa que foi estatisticamente significativa ($p < 0,01$) (TABELA 42).

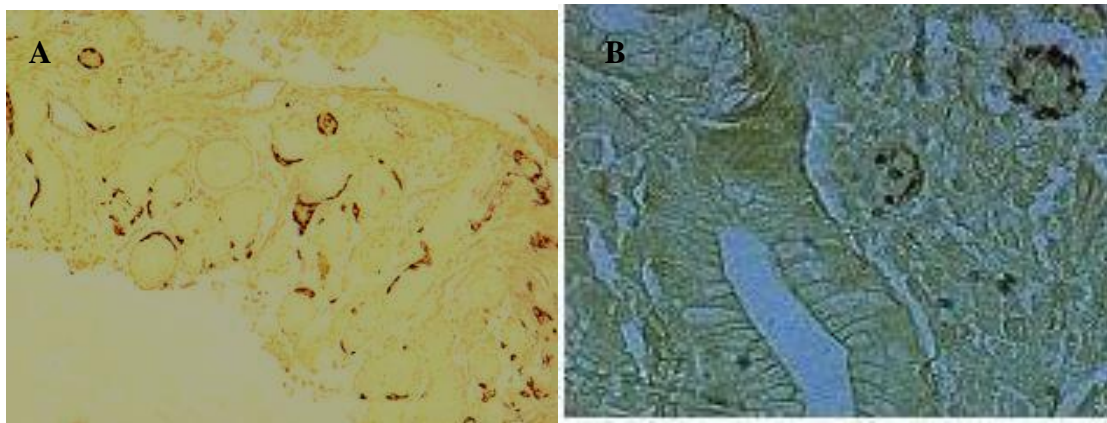


FIGURA 8: Hiperplasia de células argirófilas na mucosa gástrica antral

A- Difusa e linear, 50x; B-Nodular, Grimelius,400x

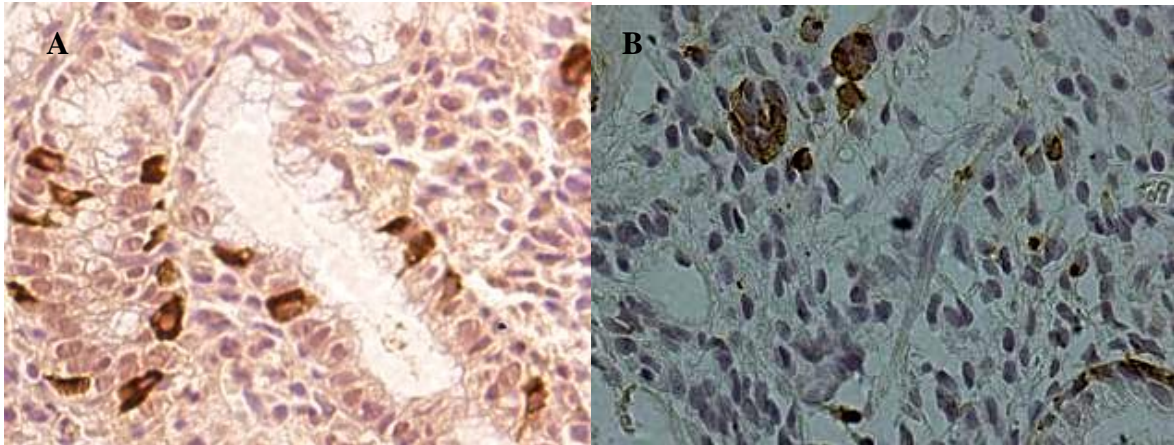


FIGURA 9: Hiperplasia de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral
B- Difusa; B-Nodular, Imunohistoquímica, 400 x

TABELA 39: Mucosa oxíntica -Distribuição da frequência das hiperplasias das células argirófilas nos grupos obeso e não obeso

Hiperplasia	Obeso	Não obeso
Difusa	3	2
Linear	2	1
Nodular	0	0
Total	5	3

Fisher, $p=0,71$

TABELA 40: Mucosa antral- Distribuição da frequência das hiperplasias de células argirófilas nos grupos obeso e não obeso.

Hiperplasia	Obeso	Não obeso
Difusa	3	1
Linear (focal)	11	3
Nodular	1	0
Total	15	4

$\chi^2=6,5$ $p=0,01$

TABELA 41: Mucosa oxíntica- Distribuição da frequência das hiperplasias de células produtoras de ghrelina nos grupos obeso e não obeso.

Hiperplasia	Obeso	Não obeso
Difusa	5	2
Linear	0	0
Nodular	0	0
Total	5	2

Fisher, p=0,44

TABELA 42: Mucosa antral- Distribuição da frequência das hiperplasias de células produtoras de ghrelina nos grupos obeso e não obeso.

Hiperplasia	Obeso	Não obeso
Difusa	5	1
Linear	4	0
Nodular	1	0
Total	10	1

$\chi^2=6,54$ p=0,010

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

A crescente prevalência da obesidade em todo o mundo e a descoberta de neurotransmissores hipotalâmicos e hormônios gastrointestinais geraram inúmeros questionamentos sobre a fisiopatologia do distúrbio alimentar que leva ao depósito excessivo de tecido adiposo e co-morbidades associadas à obesidade. Entre os peptídeos gastrointestinais já identificados, a ghrelina é o único que estimula a fome e age por via vagal e possivelmente de forma direta, estimulando neurônios que liberam neurotransmissores orexígenos e inibindo neurônios que liberam neurotransmissores anorexígenos (10, 59, 60). Pesquisas indicam que os níveis séricos da ghrelina estão reduzidos em indivíduos obesos, exceto na condição de obesidade hipotalâmica como na Síndrome de Prader Willi, em que estudos com análogos de somatostatina, conhecido inibidor da ghrelina, mostraram ser eficazes na redução do peso, indicando o papel da ghrelina na fisiopatologia desse tipo de obesidade (78, 79, 80).

Estudos evidenciaram células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica de ratos, cães e em humanos (8, 9) e como as células humanas eram estruturalmente semelhantes à células do tipo A da mucosa gástrica de ratos e à células do tipo X na mucosa gástrica dos cães, passou a ser denominada célula *A/X-like* como a célula produtora de ghrelina da mucosa oxíntica humana.

Quando os indivíduos obesos mórbidos são submetidos à cirurgia bariátrica pelo método de gastroplastia e derivação gastrojejunal (by pass gástrico), os níveis séricos de ghrelina caem a índices indetectáveis, enquanto o mesmo não ocorre em outros tipos de cirurgias bariátricas em que se mantêm o estômago íntegro e em contato com o alimento ingerido, como na gastroplastia por banda vertical (71,72,73). Esses achados confirmam que a principal fonte da ghrelina é na mucosa gástrica e que a exclusão da mucosa gástrica do contato com o alimento seja um dos motivos do sucesso dessa forma de tratamento em casos severos de obesidade.

Para se estudar com mais acurácia os elementos endócrinos da mucosa gástrica nos pacientes obesos, como foi o principal motivo deste trabalho era necessário avaliar de forma detalhada a morfologia e a histopatologia da mucosa gástrica destes pacientes pelos seguintes motivos: (a) A doença gástrica é muito freqüente, principalmente aquela associada à bactéria *Hp* e, como sabemos, pode provocar alterações, às vezes acentuadas, da mucosa e, assim afetar indiretamente a população e distribuição das células endócrinas neste tecido; (b) Trabalhos anteriores tem demonstrado que a presença da bactéria pode afetar o número e a

secreção do componente endócrino do estômago, principalmente gastrina e somatostatina (89, 90) e, (c) Muito pouco existe na literatura sobre estudos da histopatologia da mucosa gástrica no paciente obeso mórbido em comparação com não obesos. Assim sendo, como primeiro passo para o estudo do componente endócrino do estômago do obeso mórbido procedeu-se ao estudo histopatológico do mesmo levando sempre em consideração a presença ou não da bactéria *H. pylori* (HP) e as lesões presentes no antro e no corpo do estômago.

Os achados histológicos da mucosa gástrica dos 50 pacientes portadores de obesidade mórbida no presente estudo foram: (a) 20% dos pacientes apresentavam pangastrite sem sinais de atrofia glandular; (b) 34% apresentaram gastrite antral ou predominantemente antral sem sinais de atrofia glandular, e (c) 8% dos pacientes apresentaram gastrite crônica com sinais de atrofia glandular. Estes resultados, relacionados à presença de gastrite crônica com e sem atrofia glandular foram semelhantes aos observados nos pacientes dispépticos, não obesos, que foram respectivamente 10%, 44% e 18% ($p=0,164$). A frequência da bactéria Hp nos pacientes obesos estudados foi de 50% e no grupo de não obesos foi de 62%. Flejou et al. (91) em estudo com 34 pacientes portadores de obesidade mórbida, verificou que 41% dos pacientes estudados tinham alguma forma de gastrite no antro e 32% gastrite também no corpo gástrico, e que tal achado não era diferente da população em geral. Papavramidis et al. (92) estudaram 30 pacientes obesos mórbidos e descreveram pangastrite (com predominância do antro) em 76,7% dos casos, gastrite apenas antral em 10%, atrofia glandular em 3,3 % e metaplasia intestinal em 6,6%. A frequência da bactéria Hp nesse estudo foi de 66,6%. Como se pode observar os resultados do presente trabalho em relação tanto à frequência da bactéria Hp quanto a presença de gastrite em suas diversas formas, foram semelhantes àqueles dados já existentes na literatura. Assim sendo podemos admitir que a presença de gastrite e da bactéria Hp aparentemente não se relaciona com os mecanismos envolvidos na determinação da obesidade mórbida. Entretanto, este fato não pode ser de todo descartado tendo em vista que tem sido constatada a influência da bactéria Hp nos níveis séricos da ghrelina observado por Nwokolo et al. (53) e Osawa et al. (54). Nossos resultados mostram igualmente que a presença da bactéria Hp pode alterar a densidade das células imunorreativas à ghrelina tanto em pacientes obesos quanto em não obesos. Quando avaliamos no presente trabalho a densidade das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica dos pacientes obesos e não obesos, observou-se que a densidade de células é maior nos pacientes Hp negativos e essa diferença foi estatisticamente significativa.

As células endócrinas da mucosa gastrointestinal estão dispersas entre as demais células epiteliais de função exócrina, e não podem ser diferenciadas destas pela coloração

rotineira com hematoxilina e eosina. A maioria destas células endócrinas cora-se pelos métodos argirófilos. O método de Grimelius é um dos mais empregados. Portanto ao se estudar a densidade das células argirófilas pode-se ter uma idéia da população das células endócrinas em geral (86, 87). Uma vez que recentemente descreveu-se o peptídeo denominado ghrelina secretado principalmente na mucosa oxíntica gástrica e que parece estar relacionado com a ingestão alimentar e equilíbrio energético abriu-se a possibilidade de se estudar uma possível função, até então desconhecida, da mucosa gástrica relacionada com a patogênese da obesidade (4). Como as células endócrinas da mucosa gástrica são muito freqüentes e apresentam diversos tipos, que nem sempre podem ser caracterizados pelos métodos histoquímicos e imuno-histoquímicos, tornou-se necessário avaliar tanto o tipo específico de célula produtora de ghrelina quanto as demais células endócrinas do estômago. Para esta última finalidade optou-se pelo método da coloração pelo Grimelius.

Nos pacientes obesos aqui estudados a densidade das células argirófilas mostrou-se semelhante à dos pacientes não obesos (IMC<30), tanto na mucosa oxíntica quanto na mucosa antral. Uma vez observado que a mucosa gástrica de pacientes obesos e de pacientes não obesos apresentaram achados histopatológicos semelhantes quando estudados em grupo, incluindo-se a infecção pelo *H. pylori*, era de se esperar que as possíveis alterações endócrinas encontradas neste estudo não fossem influenciadas pela presença da infecção pelo Hp ou de gastrite. Esta possibilidade parece ser relevante porque uma série de trabalhos tem demonstrado alterações de tipos específicos de células endócrinas, como as células G e D, aparentemente relacionadas com a infecção pelo Hp (89, 90). Portanto, podemos admitir que a ausência de diferenças entre as populações de células endócrinas não tenha relação com a presença de gastrite ou da bactéria Hp. Por outro lado, observou-se que a densidade de células argirófilas na mucosa do corpo gástrico de pacientes mulheres portadoras de obesidade mórbida obesos foi superior à dos pacientes obesos do sexo masculino (p=0,04). Frente ao presente resultado, é possível que o comportamento endócrino da mucosa gástrica de mulheres obesos possa apresentar diferenças em relação aos obesos do sexo masculino. Este fato pode se correlacionar com achados epidemiológicos que mostram maior prevalência de obesidade em mulheres (3,12). Todavia este é um achado que julgamos necessitar de mais estudos para confirmação.

A homeostase endócrina da mucosa oxíntica é muito complexa e pouco conhecida. É possível que não somente células produtoras de ghrelina estejam afetadas na obesidade, mas também outros tipos celulares que possam explicar esta possível diferença encontrada entre mulheres e homens obesos mórbidos.

Não foi encontrada diferença na densidade de células argirófilas nas mucosas oxíntica e antral quando se consideram outras variáveis como presença de Hp, idade e IMC. Não há na literatura nenhuma descrição da densidade das células argirófilas em pacientes portadores de obesidade. O achado, no presente estudo, de densidades de células argirófilas semelhantes entre os grupos estudados (obesos mórbidos e não obesos) nas mucosas oxíntica e antral, não pode ser considerado como resultado definitivo, por não excluir possíveis alterações de tipos específicos de células endócrinas e por este motivo são necessários estudos mais detalhados desta matéria em pacientes com e sem obesidade.

Observou-se no grupo de pacientes obesos (30%) e em menor número em pacientes não obesos (8%) alterações proliferativas focais de células endócrinas do antro gástrico, representadas pela população de células argirófilas. Estas alterações proliferativas foram classificadas, no presente trabalho, como alterações hiperplásicas. Vários autores têm descrito hiperplasia de células endócrinas na mucosa gástrica. Uma das condições em que se observa este tipo de hiperplasia endócrina é aquela que ocorre no paciente com gastrite crônica atrófica da mucosa do corpo (gastrite auto-imune) associada à hipergastrinemia (93). Diferentes tipos de alterações hiperplásicas de células endócrinas da mucosa gástrica foram identificadas e podem ser classificadas das seguintes formas: Difusa, Linear, Micronodular ou Adenomatóide (88). Esta classificação acabou sendo extrapolada para caracterizar as hiperplasias de células endócrinas nas demais doenças digestivas, na falta de classificações melhores ou mais específicas. Havu et al. (94) estudaram possíveis alterações numéricas e qualitativas de células endócrinas da mucosa oxíntica de pacientes com úlcera gástrica, utilizando-se desta classificação. Da mesma forma, com pequenas modificações, esta classificação tem sido utilizada em relação a alterações proliferativas de células endócrinas em outros setores do tubo digestivo, como foi descrito recentemente por Anlauf et al. (95), na mucosa duodenal em portadores de neoplasia endócrina múltipla (NEM) tipo 1.

No presente trabalho encontrou-se hiperplasia difusa, linear e nodular de células argirófilas e também de células imunorreativas à ghrelina, com relativa frequência, na mucosa antral de pacientes portadores de obesidade mórbida, enquanto que nos pacientes não obesos foram observadas apenas em pequeno número de pacientes. Hiperplasias focais de células argirófilas foram significativamente mais prevalentes na mucosa antral de pacientes obesos mórbidos que no grupo dos pacientes não obesos ($p < 0,05$). Com base nesta observação pode-se inferir que determinado número de pacientes obesos apresentariam-se naturalmente predispostos para este tipo de proliferação endócrina. Como este achado foi também

observado em alguns pacientes não obesos, é possível que esta reação seja peculiar de uma pequena fração dos indivíduos normais e que esteja exacerbado em alguns indivíduos obesos.

Esta reação proliferativa de células endócrinas na mucosa antral não deve ser considerada um achado isolado no estômago de pacientes obesos, uma vez que neste grupo de pacientes foram detectadas alterações significativas da população de células imunorreativas à ghrelina na mesmo local. No antro gástrico de indivíduos com IMC normal, as células imunorreativas à ghrelina ocorrem apenas esporadicamente, lembrando mais uma vez que a mucosa oxíntica é o local de maior produção deste peptídeo. Da mesma forma que as células argirófilas, foi observado em relação às células imunorreativas à ghrelina uma maior frequência de alterações hiperplásicas do tipo difusa, linear e nodular na mucosa antral de pacientes obesos (20%) que em pacientes não obesos (2%). Estudo de Papotti et al. (83,84) demonstrou a presença de células imunorreativas à ghrelina em carcinóides gástricos e áreas peritumorais de pacientes portadores de gastrite atrófica do corpo, onde foi descrito alterações hiperplásicas lineares, difusas e nodular de células endócrinas pelo método de imunohistoquímica para cromogranina. Neste mesmo estudo foi sugerido que estados de hipergastinemia levariam à proliferação de células ECL e de outros tipos celulares como da célula *A/X-like*. Diferentemente, no presente estudo o achado de hiperplasia de células argirófilas e de células imunorreativas à ghrelina foram observados em pacientes com mucosas gástricas relativamente bem preservadas. Portanto levando em consideração os achados da literatura que mostram alterações da concentração plasmática de ghrelina nos pacientes obesos, é possível que nossos achados histológicos possam ter alguma correspondência com estes achados sorológicos.

No estudo quantitativo das células imunorreativas à ghrelina, encontrou-se densidade aumentada destas células na mucosa antral de pacientes obesos mórbidos em relação ao grupo de pacientes não obesos. Na mucosa oxíntica, local de maior produção da ghrelina, não houve diferença estatística entre os grupos obesos mórbidos e não obesos em relação ao número de células imunorreativas à ghrelina. Além disso, foi avaliada separadamente a correlação entre a densidade das células imunorreativas à ghrelina e os achados histológicos. A única diferença observada em relação que parece ter sido influenciada pela presença de gastrite ocorreu na mucosa oxíntica de pacientes obesos mórbidos. Nestes pacientes com gastrite crônica histológica, representada por gastrite antral e pangastrite, a densidade de células imunorreativas à ghrelina foi menor que a observada nos obesos com mucosa preservada histologicamente. Entretanto, é de se observar que nos pacientes não obesos esta diferença não ocorreu, ou seja, pacientes não obesos com e sem gastrite crônica não apresentaram

diferença na concentração de células produtoras de ghrelina. Os motivos desta alteração apenas nos pacientes obesos, necessitam explicações que a nosso ver, ainda não estão claras.

A densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica foi significativamente maior ($p=0,001$) no grupo das mulheres comparando ao de homens. No entanto, quando separamos os grupo por IMC, essa diferença entre os sexos somente é observada no grupo dos não obesos. Este fato pode ser explicado pelo motivo que os indivíduos obesos do sexo masculino apresentam densidade média de células imunorreativas à ghrelina superior à do grupo não obesos homens. Purnell et al. (57) em seu trabalho correlacionaram os níveis séricos de ghrelina com o gênero e verificaram que eram semelhantes entre 60 homens e mulheres de idades e peso variáveis. Broglio et al.(58) estudaram, em 17 homens e 17 mulheres de diferentes idades e com IMC $22,6 \pm 3,0$, os níveis séricos de ghrelina e verificaram que eram também semelhantes. Barkan e cols. (59) estudaram onze indivíduos normais e nove indivíduos com acromegalia e detectaram elevações de cerca de três vezes nos níveis séricos de ghrelina em 24 horas em mulheres comparados aos homens nos grupos estudados. Concluindo, pode-se inferir que a secreção da ghrelina pode ser influenciada diferentemente de acordo com o sexo, entretanto como há resultados contraditórios na literatura, mais estudos são necessários para elucidar tal observação.

Um estudo publicado recentemente mostrou densidade aumentada de células imunorreativas à ghrelina no fundo gástrico em pacientes portadores de Síndrome de Prader Willi, condição clínica que cursa com obesidade grave e níveis séricos aumentados de ghrelina (77) comparados com grupo de obesos e grupo de não obesos. Neste mesmo estudo foi demonstrado que há células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral, porém em número bem menor que na mucosa oxíntica e não houve diferença estatística na densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral deste grupo de pacientes em relação ao controle (dez obesos e dezenove indivíduos não obesos). Os trabalhos anteriores têm enfatizado que a sede principal de secreção da ghrelina é a mucosa oxíntica, sendo responsável pela maior parte da concentração sérica deste peptídeo. O restante da ghrelina circulante seria produzido por células esparsas na mucosa antral, intestinal, pâncreas, hipotálamo, entre outros tecidos. Portanto, a mucosa antral gástrica normalmente não seria sede importante de produção deste hormônio. De fato, a presença de células imunorreativas à ghrelina no antro gástrico é pequena.

No presente trabalho a densidade média de células secretoras de ghrelina foi muito variável de paciente para paciente e parece ter sido influenciada pela presença da bactéria Hp.

Nos pacientes não obesos Hp positivo a densidade média na mucosa antral foi de 6,9 cels/mm² e em pacientes não obesos Hp negativo foi de 26,1 cels/mm² (p=0,019). Entretanto esta concentração foi bem menor que a observada no corpo gástrico em que se encontrou 75,25 em indivíduos não obesos e 117,01 cels/mm² em indivíduos obesos. Como parece que o Hp influenciou na concentração destas células é possível que na mucosa antral de pacientes dispépticos não obesos e Hp negativos, estas células estejam realmente em número maior.

Finalizando, concluímos que a obesidade constitui um distúrbio muito frequente no mundo contemporâneo e provavelmente decorre de múltiplos fatores externos e individuais. Entre estes últimos, devem ser consideradas como possíveis fatores, as alterações das células endócrinas gastrointestinais, entre elas aquelas da mucosa gástrica, que possivelmente podem estar direta ou indiretamente relacionadas à saciedade e apetite, como se acredita ocorrer com as células produtoras de ghrelina.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitiram as seguintes conclusões:

1. Os achados histológicos e a frequência da bactéria *Helicobacter pylori* foram semelhantes nos grupos de pacientes obesos mórbidos e não obesos
2. Não foi encontrada diferença significativa em relação à densidade de células argirófilas na mucosa oxíntica e na mucosa antral entre pacientes obesos mórbidos e os pacientes não obesos.
3. Não foi encontrada diferença significativa em relação à densidade de células argirófilas na mucosa oxíntica e na mucosa antral entre os pacientes obesos mórbidos e os pacientes não obesos em relação à presença ou ausência de gastrite crônica ou a presença da bactéria Hp.
4. A densidade de células argirófilas da mucosa oxíntica no grupo de pacientes obesos mórbidos foi significativamente maior entre as mulheres.
5. A densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral foi significativamente maior no grupo de pacientes obesos mórbidos do que no grupo de pacientes não obesos, enquanto que na mucosa oxíntica não houve diferença significativa.
6. A densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica variou conforme os achados histológicos apenas no grupo de pacientes obesos mórbidos, sendo encontrada em maior número nos pacientes obesos com mucosa gástrica normal;
7. Foi encontrada diferença estatisticamente significativa nas densidades das células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica conforme o sexo, sendo maior entre as mulheres no grupo de pacientes dispépticos não obesos e quando se avaliou a totalidade dos pacientes estudados, obesos e não obesos. Este resultado no entanto, não foi observado quando se avaliou separadamente o grupo de pacientes obesos mórbidos,

8. A densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa oxíntica foi significativamente maior entre os pacientes Hp negativos, tanto no grupo de pacientes obesos mórbidos quanto no grupo não obesos;
9. A densidade de células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral foi significativamente maior no grupo de pacientes não obesos Hp negativos, enquanto que no grupo de pacientes obesos mórbidos essa diferença não ocorreu em relação a presença da bactéria Hp;
10. Foi observada frequência significativamente maior de alterações hiperplásicas focais tanto das células argirófilas quanto das células imunorreativas à ghrelina na mucosa antral de pacientes obesos mórbidos em relação aos pacientes não obesos. Este dado obteve significância estatística.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. MALINA, R.M. (1969) Quantification of fat, muscle and bone in man. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, v.65, p.9-38.
02. FEDERAÇÃO LATINOAMERICANA DE SOCIEDADES DE OBESIDADE (1998) *Consenso Latinoamericano de Obesidade*.
03. WORLD HEALTH ORGANIZATION [WHO].(1997) *Obesity: preventing and managing the global epidemic - report of a WHO consultation on obesity*. Geneva: WHO
04. KOJIMA M, HOSODA H, DATE Y, NAKAZATO M, MATSUO H, KANGAWA K (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402:656–660
05. ARIYASU, H., TAKAYA, K., TAGAMI, T., OGAWA, Y., HOSODA, K., AKAMIZU, T., SUDA, M., KOH, T., NATSUI, K., TOYOOKA, S., SHIRAKAMI, G., USUI, T., SHIMATSU, A., DOI, K., HOSODA, H., KOJIMA, M., KANGAWA, K. & NAKAO, K. (2001) Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86, 4753–4758.
06. ENGLISH, P.J., GHATEI, M.A., MALIK, I.A., BLOOM, S.R. AND WILDING, J.P. (2002) Food fails to suppress ghrelin levels in obese humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 2984
07. SHIYA, T., NAKAZATO, M., MIZUTA, M., DATE, Y., MONDAL, M.S., TANAKA, M., NOZOE, S., HOSODA, H., KANGAWA, K. & MATSUKURA, S. (2002) Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87, 240–244.

08. DATE Y, KOJIMA M, HOSODA H, ET AL. (2000) Ghrelin, a novel growth-hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 141:4255–4261
09. DORNONVILLE DE LA COUR, C., BJORKQVIST, M., SANDVIK, A.K., BAKKE, I., ZHAO, C.M., CHEN, D. & HAKANSON, R. (2001) A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regulatory Peptides*, 99, 141–150.
10. VAN DER LELY, A.J., TSCHOP, M., HEIMAN, M.L. & GHIGO, E. (2004) Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocrine Reviews*, 25, 426–457.
11. CUMMINGS, D.E., WEIGLE, D.S., FRAYO, R.S., BREEN, P.A., MA, M.K., DELLINGER, E.P. & PURNELL, J.Q. (2002b) Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *New England Journal of Medicine*, 346, 1623–1630.
12. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. (2004) *Obesidade-Prevenindo e controlando a Epidemia Global*, Relatório da consultoria da OMS. São Paulo; ROCA.
13. KEYS A, FIDANZA F, KARVONEN MJ, KIMURA N, TAYLOR HL. (1972) Indices of relative weight and obesity. *J Chronic Dis*; 25:329-43.
14. PORIES WJ. The surgical treatment of obesity. (2002)Endotext.com: Chapter 20 march
15. AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGIST/AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY (AACE/ACE) Obesity Task Force. (1998) *Endocrine Practice* vol.4 No. 5 September/October.
16. STROBEL A, ISSAD T, CAMOIN L, OZATA M, STROSBERG AD. (1998) A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet*; 18: 213-5.

17. DUBERN B, CLÉMENT K, PELLOUX V, FROGUEL P, GIRARDET JP, GUY-GRAND B, TOUNIAN P. (2001) Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and a -melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children. *J Pediatr*; 139:204-9
18. MEHMET M, MERGEN H, OZATA M, ONER R, ONER C.(2001) A novel melanocortin 4 receptor (MC4R) gene mutation associated with morbid obesity. *J Clin Endocrinol Metab*; 86:3448-51
19. FLEGAL KM .(1998) Overweight and obesity in the United States: prevalence and trend, 1960-1994. *International Journal of Obesity*, 22;39-47.
20. WORLD HEALTH ORGANIZATION (1989). MONICA Project: risk factors. *International Journal of Epidemiology*, 18(suppl. 1):S46-S55.
21. TANPHAICHITR V ET AL. (1990)Prevalence of obesity and its associated risks in urban Thais.In: Oomura T et al.,eds. Progress in obesity research, London, John Libbey :649-653.
22. WANG Y, POPKIN B, ZHAI F.(1998) The nutricinoanl status and dietary pattern of chinese adolesnts, 1991 and 1993. (1998) *European Journal of Clinical Nutrition*, 52;908-916
23. NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL (NHMRC) (1998). *Acting on Australia's weght:a strategic plan for the prevenrion of overweight and obesity*. Canberra, Australian Government Publishing Service, 1997.TAUBES G, *Science*, Vol 280, Issue 5368, 1368 , 29 May.
24. HODGE AM ET AL. (1995) Prevalence and secular trends in obesity in Pacific and Indian Ocean island populations. *Obesity Research*, 3 (Suppl.2):77s 87s.
25. AL-ISA NA.(1995) Prevalence of obesity among adults Kuwaitis: a cross-sectional study. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*,19:431-433

26. MUSAIGER AO. (1996) Trends in diet-related chronic diseases in United Arab Emirates. In: MUSAIGER AO, MILADI SS, eds. Diets-related non-communicable diseases in the Arab countries of the Gulf. Cairo, Food and Agriculture Organization of the United Nations:99-117.
27. FUNDAÇÃO IBGE. (1977) Estudo Nacional da Despesa Familiar - ENDEF. Rio de Janeiro.
28. FUNDAÇÃO IBGE. (1989) Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição- PNSN. Rio de Janeiro.
29. FUNDAÇÃO IBGE. (2003) Pesquisa de Orçamentos Familiares- POF. Rio de Janeiro.
30. FUNDAÇÃO IBGE. (1997) Pesquisa sobre Padrões de Vida 1996/1997-PSPV. Rio de Janeiro
31. COLDITZ GA.(1992) Economic costs of obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*, 55 (Suppl. 2) : 503S-507S.
32. WOLF AM, COLDITZ GA. (1994) The costs of obesity: the U.S. perspective. *Pharmaco Economics*, 5:34-37.
33. PEETERS A. ; BARENDREGT J.; WILLEKENS F.; MACKENBACH J.P.; MAMUN A. ; BONNEUX A. (2003). Obesity in Adulthood and Its Consequences for Life Expectancy:A Life-Table Analysis. January. *Annals of Internal Medicine* Volume 138 • Number 1 25
34. MANSON JE, WILLETT WC, STAMPFER MJ. (1995) Body weight and mortality among women. *New England Journal of Medicine*, 333:677-685
35. HUBERT, H. B.; FEINLEIB, M.; MCNAMARA, P. M., CASTELLI, W. P. (1983). Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation*, 67:968-977.

36. NATIONAL CENTER FOR HEALTH STATISTICS. Centers for Disease Control and Prevention. National Health and Nutritional Survey II(NHANES II). 1976-1980. Disponible [on line]: www.cdc.gov/nchs/about/major/nhanes/hdlfem.
37. LEAN MEJ, POWRIE JK, ANDERSON (1990) Obesity, weight loss and prognosis in type 2 diabetes. *Diabet Med* 1990; 7: 228-233
38. MURPHY TK, CALLE EE, RODRIGUEZ C, KAHN HS, THUN MJ.(2000) Body mass index and colon cancer mortality in a large prospective study. *American Journal of Epidemiology* ; 152(9):847–854.
39. SCHWARTZ M.V.(2000) Staying slim with insulin in mind. *Science* 289: 2066-7.
40. WOODS, S.C.; SEELEY, R.J.; PORTE JR, D. & SCHWARTZ, M.W.(1998)- Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 280: 1378-83.
41. VERDICH, C.; TOUBRO, S.; BUEMANN, B. MADSEN, J.L.; HOLST J.J. & ASTRUP,A(2001) *International Journal of Obesity* 25: 1206-14.
42. MATTES RD. (1997) Physiologic responses to sensory stimulation by food: Nutritional implications. *J Am Diet Assoc* 97:406-410,413.
43. KARHUNEN LH, LAPPALAINEN RI, VANNINEN EJ, KUIKKA JT, UUSITUPA MIJ. (1997) Regional cerebral blood flow during food exposure in obese and normal-weight women. *Brain* 120:1675-84.
44. WYNNE K, STANLEY S, BLOOM S.(2004) The gut and regulation of body weight. *The journal of Clinical Endocrinology and metabolism* 89:6; 2576-2582
45. NEARLY NM, GOLDSTONE AP, BLOOM SR. (2004). Appetite regulation:from the gut to the hypothalamus. *Clinical Endocrinology* 60, 153-160
46. HOPPIN AG, KAPLAN LM. (1999) The leptin era: new insight into the mechanisms of body weight homeostasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1999;29:250-64.

47. KOLACZYNSKI JW, CONSIDINE RV, OHANNESIAN J, MARCO C, OPENTANOVA I, NYCE MR, MYINT M, CARO JF. (1996) Responses of leptin to short term fasting and refeeding in humans: A link with ketogenesis but not ketones themselves. *Diabetes* 45:1511-1515, 1996.
48. MICHAEL O. THORNER (1998) The Discovery of Growth Hormone-Releasing Hormone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84, 12 4671-4676
49. SMITH RG, VAN DER PLOEG LH, HOWARD AD, FEIGHNER SD, CHENGSMITH RG, VAN DER PLOEG LH, HOWARD AD, FEIGHNER SD, CHENG K, HICKEY GJ, WYVRATT JR MJ, FISHER MH, NARGUND RP, PATCHETT AA (1997) Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 18:621-645
50. MURRAY CDR, KAMM MA, BLOMM SR, AMMANUEL AV (2003) Ghrelin for the Gastroenterologist: history and potential . *Gastroenterology* 125:1492-1502
51. RINDI G, NECCHI V, SAVIO A, TORSELLO A, ZOLI M, LOCATELLI V, RAIMONDO F, COCCHI D, SOLCIA E (2002) Characterization of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochemistry and Cell Biology* 117: 511-551
52. GOKCEL A, GUMURDULU Y, KAYASELCUK F, SERIN E, OZER B, OZSAHIN AK, AND GUVENER N. (2003) *Helicobacter pylori* has no effect on plasma ghrelin Levels. *Eur J Endocrinol* ;148:423-6
53. NWOKOLO CU, FRESHWATER DA, O'HARE P.(2003) Plasma ghrelin following cure of *Helicobacter pylori*. *Gut* ; 52 : 637-4.

54. OSAWA, M. NAKAZATO, Y. DATE, H. KITA, H. OHNISHI, H. UENO, T. SHIYA, K. SATOH, Y. ISHINO, AND K. SUGANO WA H. (2005) Impaired Production of Gastric Ghrelin in Chronic Gastritis Associated with *Helicobacter pylori* *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, January, 90(1): 10 – 16
55. GHALILLO O, CAMINOS JE, KOJIMAM, KANGAWA K, ARVAT E, GHIGO E, CASANUEVA FF, DIEGUEZ C. (2001) Gender and gonadal influences on ghrelin mRNA levels in rat stomach. *Eur J Endocrinol* 144:687-690
56. BELLONE S, RAPA A, VIVENZA D, CASTELLINO N, PETRI A, BELLONEJ, ME E, BROGLIO F, PRODAM F, GHIGO E, BONA G (2002). Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J Endocrinol Invest* 25: RC13-RC15
57. PURNELL JQ; WEGLE D.S.; BREEN P.; CUMMINGS D.E. (2003) Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88, 5747-5752
58. BROGLIO, F., BENSO, A., CASTIGLIONI, C., GOTTERO, C., PRODAM, F., DESTEFANIS, S., GAUNA, C., VAN DER LELY, A.J., DEGHEGHI, R., BO, M., ARVAT, E. & GHIGO, E. (2003a) The endocrine response to ghrelin as a function of gender in humans in young and elderly subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88, 1537–1542.
59. ARIEL L. BARKAN, ELENI V. DIMARAKI, STACY K. JESSUP, KATHLEEN V. SYMONS, MIKHAIL ERMOLENKO AND CRAIG A. JAFFE. (2003) Ghrelin Secretion in Humans Is Sexually Dimorphic, Suppressed by Somatostatin, and Not Affected by the Ambient Growth Hormone Levels. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* Vol. 88, No. 5 2180-2184

60. CAIXAS, A., BASHORE, C., NASH, W., PI-SUNYER, F. & LAFERRERE, B. (2002) Insulin, unlike food intake, does not suppress ghrelin in human subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87, 1902.
61. CHANOINE LP, WONG ACK (2004). Ghrelin Gene Expression Is Markedly Higher in Fetal Pancreas Compared with Fetal Stomach: Effect of Maternal Fasting. *Endocrinology* 145 (8) 3813-3820
62. ADEGHATE E, PONERY AS. (2002) Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J Neuroendocrinol.* 2002 Jul;14(7):555-60.
63. WREN AM, SMALL CJ, WARD HL, ET AL. (2000) The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 141:4325–4328
64. DATE, Y., MURAKAMI, N., TOSHINAI, K., MATSUKURA, S., NIIJIMA, A., MATSUO, H., KANGAWA, K. & NAKAZATO, M. (2002A) The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology*, 123, 1120–1128.
65. WILLIAMS, D.L., GRILL, H.J., CUMMINGS, D.E. & KAPLAN, J.M. (2003) Vagotomy dissociates short- and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology*, 144, 5184–5187.
66. BANKS WA, TSCHOP M, ROBINSON SM, HEIMAN ML, (2002). Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J Pharmacol Exp Ther* 302:822-827
67. BEAUMONT NJ, SKINNER VO, TAN TM, RAMESH BS, BYRNE DL, MACCOLL GS, KEEN JN, BOULOUX PM, MIKHAILIDIS DP, BRUCKDORFER KR,

- VANDERPUMP MP, SRAI KS KS (2003) Ghrelin can bind to a species of high-density lipoprotein associated with paroxonase. *J Biolol Chem* 278:8877-8880
68. CUMMINGS, D.E., PURNELL, J.Q., FRAYO, R.S., SCHMIDOVA, K., WISSE, B.E. & WEIGLE, D.S. (2001) A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes*, 50, 1714–1719.
69. TSCHOP, M., WEYER, C., TATARANNI, P.A., DEVANARAYAN, V., RAVUSSIN, E. & HEIMAN, M.L. (2001b) Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, 50, 707–709.
70. HANSEN, T.K., DALL, R., HOSODA, H., KOJIMA, M., KANGAWA, K., CHRISTIANSEN, J.S. & JORGENSEN, J.O. (2002) Weight loss increases circulating levels of ghrelin in human obesity. *Clinical Endocrinology (Oxford)*, 56, 203–206.
71. CUMMINGS, D.E. & SHANNON, M.H. (2003) Ghrelin and gastric bypass: is there a hormonal contribution to surgical weight loss? *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 88, 2999–3002.
72. LEONETTI, F., SILECCHIA, G., IACOBELLIS, G., RIBAUDO, M. C., ZAPPATERRENO, A., TIBERTI, C., IANNUCCI, C. V., PERROTTA, N., BACCI, V., BASSO, M. S., BASSO, N., DI MARIO, U. (2003). Different Plasma Ghrelin Levels after Laparoscopic Gastric Bypass and Adjustable Gastric Banding in Morbid Obese Subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 4227-42
73. FRUHBECK, G., EZ-CABALLERO, A., GIL, M.J., MONTERO, I., GOMEZ-AMBROSI, J., SALVADOR, J. & CIENFUEGOS, J.A. (2004) The decrease in plasma ghrelin concentrations following bariatric surgery depends on the functional integrity of the fundus. *Obesity Surgery*, 14, 606– 612.

74. GOMEZ, G., ENGLANDER, E.W. & GREELEY, G.H. JR. (2004) Nutrient inhibition of ghrelin secretion in the fasted rat. *Regulatory Peptides*, 117, 33–36.
75. ERDMANN, J., TOPSCH, R., LIPPL, F., GUSSMANN, P. & SCHUSDZIARRA, V. (2004) Postprandial response of plasma ghrelin levels to various test meals in relation to food intake, plasma insulin, and glucose. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89, 3048–3054.
76. TSCHÖP M, SMILEY DL, HEIMAN ML (2000) Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407:908–913
77. CUMMINGS, D.E., CLEMENT, K., PURNELL, J.Q., VAISSE, C., FOSTER, K.E., FRAYO, R.S., SCHWARTZ, M.W., BASDEVANT, A. & WEIGLE, D.S. (2002a) Elevated plasma ghrelin levels in Prader–Willi syndrome. *Nature Medicine*, 8, 643–644.
78. DELPARIGI, A., TSCHOP, M., HEIMAN, M.L., SALBE, A.D., VOZAROVA, B., SELL, S.M., BUNT, J.C. & TATARANNI, P.A. (2002) High circulating ghrelin: a potential cause for hyperphagia and obesity in Prader–Willi syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87, 5461–5464.
79. CHOE YH, SONG SY, PAIK LH, OH YJ, CHU HC, YEO SH, KWON EKK, KIM EM, RHA MY, JIN DK. (2005) Increased density of ghrelin expressing cells in the gastric fundus and body in Preder-Willi Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, September 10.1210
80. BROGLIO, F., KOETSVELD, P.P., BENSO, A., GOTTERO, C., PRODAM, F., PAPOTTI, M., MUCCIOLI, G., GAUNA, C., HOFLAND, L., DEGHENGI, R., ARVAT, E., VAN DER LELY, A.J. & GHIGO, E. (2002c) Ghrelin secretion is inhibited by either somatostatin or cortistatin in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87, 4829–4832.

81. SORIANO-GUILLEN, L., BARRIOS, V., CAMPOS-BARROS, A. & ARGENTE, J. (2004) Ghrelin levels in obesity and anorexia nervosa: effect of weight reduction or recuperation. *Journal of Pediatrics*, 144, 36–42.
82. NAGAYA, N., UEMATSU, M., KOJIMA, M., DATE, Y., NAKAZATO, M., OKUMURA, H., HOSODA, H., SHIMIZU, W., YAMAGISHI, M., OYA, H., KOH, H., YUTANI, C. & KANGAWA, K. (2001c) Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation*, 104, 2034–2038.
83. PAPOTTI, M., GHE, C., VOLANTE, M. & MUCCIOLI, G. (2004) Ghrelin and tumors. In: *Ghrelin (More Than Simply a Natural GH Secretagogue and/or an Orexigenic Factor)* (ed. E. Ghigo), 143–164. Kluwer Academic, Boston.
84. PAPOTTI M, CASSONI P, VIOLANTE M. DEGHEGHI R, MUCCIOLI G, GHIGO E (2001). Ghrelin- producing endocrine tumors of the stomach and intestine. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86: 5052-5059
85. PEARSE AGE. (1969). The cytochemistry and ultrastructure of the polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. *Journal of Histochem Cytochem* . 17:303-313
86. BARBOSA AJA (2000). Sistema APUD gastrointestinal. In: *Gastroenterologia Rumo ao Terceiro Milênio* 1^a ed. São Paulo. 25-43
87. GRIMELIUS L. (1968). A silver nitrate stain for alpha-2 cells in human pancreatic islets. *Acta Soc Med Ups* 73:243-270.
88. SOLCIA E, BORDI C, CREUTZFELD W, DAYAL Y, DAYAN AD, FALKMER S, GRIMELIUS L, HAVU N. (1988). Histopathological classification of nonantral gastric endocrine growths in man. *Digestion* 41, 185-200

89. QUEIROZ DMM, MENDES N, ROCHA GA, MOURA SB, RESENDE LMH, BARBOSA AJA, COELHO LGV, PASSOS MC, CASTRO LP, OLIVEIRA CA, LIMA GF. (1993). Effect of *Helicobacter pylori* eradication on antral gastrin-and-somatostatin-immunoreactive cell density and gastrin and somatostatin concentrations. *Scand J Gastroenterol* 28; 858-864
90. HARUMA K, SUMII K, OKAMOTO S. (1995) *Helicobacter pylori* infection is associated with low antral somatostatin content in young adults. Implications for the pathogenesis of hypergastrinaemia. *Scand J Gastroenterol*; 30:550-553
91. FLEJOU J.F.; OWEN E.R.T.C; SMITH A.C.; PRICE A.B. (1988) Effect of vertical banded gastroplasty on natural history of gastritis in patients with morbid obesity: a follow-up study. *Br J.Surg.* 75, July, 705-707
92. PAPA VRAMIDIS S.T.; THEOCHARIDIS TG; ZARABOUKAS BP; CHRISTOFORIDOU II; KESSISSOGLU AP; AIDONOPOULOS AP.(1996) Upper gastrointestinal endoscopic and histologic findings before and after vertical banded gastroplasty. *Surg Endosc* 10:825-830.
93. SJOBLOM S M; SIPPONEN P; KARONEN S L; JARVINEN H.(1989) Mucosal argyrophil endocrine cells in pernicious anemia and upper gastrointestinal carcinoids tumors. *J Clin Pathol*: 42,371-377
94. HAVU N, MAAROOS I, SIPPONEN P (1991). Argyrophil cell hyperplasia associated with chronic corpus gastritis in gastric ulcer disease. *Scand J Gastroenterol* 186,90-94
95. ANLAUF M, PERREN A, MEYER CL, SCHMID S, SAEMASLANI P, KRUSE ML, WEIHE E, KOMMINOTH P, HEITZ PU AND KLOPPEL G. (2005). Precursor lesions in patients with multiple endocrine neoplasia type 1-associated duodenal gastrinomas. *Gastroenterology* 128:1187-1187