

ANA CLAUDIA PELISSARI KRAVCHYCHYN

Papel de fatores anorexígenos e orexígenos na regulação do balanço energético em adolescentes com obesidade: Análise longitudinal

Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, para obtenção do Título de Doutora em Ciências.

**São Paulo
2020**

ANA CLAUDIA PELISSARI KRAVCHYCHYN

Papel de fatores anorexígenos e orexígenos na regulação do balanço energético em adolescentes com obesidade: Análise longitudinal

Tese apresentada à Universidade Federal de
São Paulo - Escola Paulista de Medicina, para
obtenção do Título de Doutora em Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Raimunda Dâmaso
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Raquel Munhoz da Silveira Campos

São Paulo
2020

Kravchychyn, Ana Claudia Pelissari.

Papel dos fatores anorexígenos e orexígenos na regulação do balanço energético em adolescentes com obesidade: Análise longitudinal/ Ana Claudia Pelissari Kravchychyn. – São Paulo, 2020.

xxi, 155f

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Nutrição.

Título em Inglês: The role of anorexigenic and orexigenic factors in the energy balance regulation in adolescents with obesity: Longitudinal analysis.

1. Adolescentes; 2. Balanço energético; 3. Terapia interdisciplinar; 4. Obesidade; 5. Índice inflamatório da dieta.

Papel de fatores anorexígenos e orexígenos na regulação do balanço energético em adolescentes com obesidade: Análise longitudinal

Presidente da Banca:

Profa. Dra. Ana Raimunda Dâmaso

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Luciana Pellegrini Pisani

Profa. Dra. Camila Maria de Melo

Profa. Dra. Adriana Garcia Peloggia de Castro

Profa. Dra. Aline de Piano Ganen

Aprovada em: 13 / 04 / 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
CAMPUS SÃO PAULO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Profa. Dra. Eliane Beraldi Ribeiro
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Nutrição

Este trabalho foi realizado no Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de São Paulo UNIFESP/EPM, com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (301322/2017-1), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Bolsista), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (2017/07372-1; 2015/14309-9; 2013/08522-6; 2011/50414-0; 2011/50356-0; 2008/53069-0).

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese à minha avó, Rosemary Wanke Kravchychyn, que partiu muito cedo desta vida em consequência de complicações da obesidade, e a todos que lutam contra essa grave doença, profissionais de saúde e pesquisadores, que buscam o melhor caminho para o tratamento dessa enfermidade, especialmente em crianças e adolescentes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, Senhor do meu caminho, que está ao meu lado em cada decisão, guiando cada conquista e me dando suporte em cada dificuldade. Ao meu Deus toda honra e glória!

À minha filha Helena, luz dos meus dias, razão de tudo, que chegou no meio dessa caminhada acadêmica e me ensinou o amor incondicional e abençoado. Ela é minha força, meu bem maior, minha inspiração.

Aos meus pais, Claudio e Terezinha, por serem a minha base e apoiarem incondicionalmente minhas decisões, principalmente a de me mudar para São Paulo e trilhar um caminho longe de casa. Sem eles, nada seria possível! Obrigada por serem os meus maiores exemplos de seres humanos e de família. Obrigada principalmente por não medirem esforços para me ajudar e para estarmos juntos, sempre! Amo vocês de todo o meu coração!

Ao meu marido, Helton, por todo o companheirismo, por dividir a sua vida e seus sonhos comigo. Caminhamos lado a lado nessa batalha e tenho a certeza de que juntos colheremos cada vez mais frutos pessoais e profissionais. A parceria e os elos que construímos são para vida toda e isso me faz ter cada dia mais esperança no futuro. Sem ele, sem seu carinho, sua lealdade, paciência e amor tudo seria muito mais difícil. Amo você e amo a nossa vida juntos!

Ao meu irmão Guilherme, por sempre levar a vida com bom humor e perseverança. Seu apoio nos momentos difíceis foi essencial. Obrigada por deixar meus dias mais leves com sua alegria e com o aconchego das nossas conversas, amo você!

À minha grande família, tias, tios, primas, primos, avós, que mesmo longe sempre me incentivaram a ser uma mulher forte e estudiosa. São de todas essas relações que tiro minha força e exemplos de vida! Enfim, família, juntos sempre seremos mais fortes. Que sorte a minha ter vocês. Meu amor e gratidão a vocês são infinitos!

Não menos importante e pessoa essencial para o desenvolvimento desta tese, deixo o meu eterno agradecimento à minha orientadora Ana Dâmaso. Obrigada por acreditar e confiar em mim como pessoa e profissional, por me guiar no mundo acadêmico compartilhando tantos ensinamentos preciosos e por ser minha referência pessoal e profissional. Tenho muito orgulho de dizer que você é minha orientadora e, de poder estudar e aprender ao lado de uma professora, pesquisadora e referência mundial no estudo da obesidade. Deus foi muito generoso colocando você em meu caminho e tenho absoluta certeza de que Ele sempre esteve presente em nossa relação.

À minha coorientadora, Raquel, por trilhar comigo esse caminho acadêmico. Ensinou-me por meio do exemplo de profissional competente, dedicada, organizada e solidária que é. Obrigada por toda a paciência, dedicação, ensinamentos e conselhos que me auxiliaram até aqui. Você é incrível Ra!

Às minhas queridas companheiras de pesquisa e caminhada acadêmica, Yasmin e Sofia, por compartilharem comigo o caminho da pós-graduação. Obrigada por toda dedicação e persistência nos momentos difíceis e todas as risadas e carinho nos momentos mais amenos e felizes. Minha eterna gratidão aos momentos que vivemos.

A todos os envolvidos do Grupo de Estudos da Obesidade, em especial a Deborah e Flávia, hoje professoras de importantes universidades, por nos ajudarem academicamente nas coletas de dados e na escrita e, pessoalmente com conselhos de profissão e da vida. Obrigada também às nossas estagiárias Geisa, Gabriela, Daniela e Isabela que sempre trabalharam arduamente e com muito bom humor em nossas coletas e tabulações de dados.

Ao professor David Thivel pela valiosa contribuição nos artigos. Sua visão e conhecimento foram essenciais.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, em especial à professora Lila, e companheiros do departamento de Fisiologia da Nutrição que me ajudaram tanto e me acolheram muito bem.

Aos professores José Taddei e Maria Arlete por nos ajudarem com o local para coleta de dados nos cedendo as salas da casinha da Nutrologia pediátrica para atendimento dos voluntários.

Aos médicos Lian e Gabriela, por dedicarem o tempo das suas atarefadas rotinas para atenderem tão atenciosamente nossos voluntários. Muito obrigada!

Às psicólogas Sônia e Samantha pelo brilhante trabalho com nossos adolescentes. Vocês são excelentes profissionais e merecem o melhor, sempre! Obrigada por tudo.

Aos meus colegas de trabalho da Universidade Ibirapuera e Faculdade Anhanguera que foram exemplos de competentes professores, ajudando-me a aprimorar minhas qualidades como docente, importante parte da minha profissão que desenvolvo com muito amor.

Aos meus queridos amigos Luciana, Maynara, Camila, Sara, Gabriela, Almir, Fred, Ana Paula, Karoline, Alessandra e Michelle que foram minha família aqui em São Paulo, acolheram-me e hoje são parte da minha história. Os dias foram muito mais leves com a presença de vocês!

Aos meus amigos maringaenses Danilo, Maynara, Débora, Gisele e em especial minha amigona de uma vida toda, Cecília, que iniciaram junto a mim a caminhada acadêmica, que me deram tanta força nos momentos difíceis e compartilharam comigo tantas alegrias, mesmo que distante. Guardo vocês a sete chaves dentro do peito!

Agradeço a CAPES pelo fomento da bolsa e por todo auxílio prestado.

Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram para esta vitória!

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

A disposição estrutural do presente trabalho segue uma nova tendência da pós-graduação na área de saúde, a qual destaca a confecção de artigos a serem publicados em periódicos especializados. Este processo vem ocorrendo há alguns anos na Universidade Federal de São Paulo e diversas dissertações de mestrado e teses de doutorado já foram apresentadas com esta nova distribuição de conteúdo. Assim, os resultados e discussão da presente tese serão apresentados em forma de artigos. Na expectativa de ter elaborado um documento que satisfaça o novo modelo de tese que vem se compondo e que tem como ponto central os artigos científicos, espera-se possibilitar uma leitura completa e satisfatória e ao mesmo tempo divulgar o presente trabalho na comunidade científica nacional e internacional.

SUMÁRIO

Dedicatória	v i
Agradecimentos	vii
Normatização adotada	x
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
Lista de Abreviaturas	xvi
Resumo	xix
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 Definição e classificação da obesidade	5
2.2 Epidemiologia da obesidade	5
2.3 Etiologia da obesidade	7
2.4 Regulação neuroendócrina do balanço energético	10
2.5 Alterações no balanço energético em obesidade e comorbidades	14
<u>2.5.1 Resistência a leptina e modulação neuroendócrina</u>	<u>14</u>
<u>2.5.2 Obesidade, comorbidades, inflamação e impacto na modulação</u> <u>neuroendócrina</u>	<u>15</u>
2.6 Plasticidade do tecido adiposo e termogênese	20
2.7 Estudos interdisciplinares envolvendo marcadores do balanço energético e aspectos inflamatórios em adolescentes com obesidade	24
3. JUSTIFICATIVA	30
4. OBJETIVOS	32
4.1 Objetivo geral	32
4.2 Objetivos específicos	32
5. MATERIAL E MÉTODOS	34
5.1 População do estudo	34
<u>5.1.2 População do artigo 1</u>	<u>34</u>
<u>5.1.2 População artigo 2</u>	<u>35</u>
<u>5.1.3 População artigo 3</u>	<u>35</u>
5.2 Desenho experimental	36
5.3 Métodos de avaliação	37
<u>5.3.1 Avaliação clínica</u>	<u>37</u>

5.3.2 Antropometria e avaliação da composição corporal	38
5.3.3 Avaliação da capacidade cardiorrespiratória e nível de atividade física	38
5.3.4 Avaliação e prescrição dietética	39
5.3.5 Avaliação bioquímica	39
5.4 Terapia interdisciplinar	40
5.4.1 Acompanhamento clínico endocrinológico	40
5.4.2 Intervenção nutricional	41
5.4.3 Intervenção psicológica	41
5.4.4 Prescrição e acompanhamento do exercício físico	42
5.4.5 Intervenção fisioterapêutica	43
5.5 Análise dos resultados	43
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1 Artigo 1	47
6.2 Artigo 2	70
6.3 Artigo 3	94
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	118
8. REFERÊNCIAS	121
ABSTRACT	131
ANEXOS	134
ARTIGO 4	146

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Crescimento da obesidade em crianças e adolescentes de 1975-2016	6
Figura 2. Evolução de indicadores antropométricos da população brasileira de 5 a 19 anos	7
Figura 3. Determinantes da obesidade pediátrica	8
Figura 4. Papel da Leptina e Grelina na sinalização de neuropeptídeos anorexígenos e orexígenos	11
Figura 5. Regulação do balanço energético por mecanismos centrais e periféricos em estado pós-prandial.....	13
Figura 6. Mecanismos centrais e periféricos relacionados ao controle neuroendócrino do balanço energético na obesidade	15
Figura 7. Inflamação adipocitária e resistência insulínica sistêmica.....	17
Figura 8. Inflamação hipotalâmica na obesidade.....	19
Figura 9. Potenciais mecanismos em resposta ao exercício físico no processo de <i>Browning</i>	23
Figura 10. Modelo de intervenção interdisciplinar.....	25
Figura 11. Desenho experimental geral.....	37
<u>Artigo 1:</u>	
Figure 1. Diagram of the multidisciplinary therapy.....	53
<u>Artigo 2:</u>	
Figure 1. Design of study	75
Figure 2. Comparison between deltas of α -MSH, MCH, AgRP, NPY and Leptin by LWL and HWL groups.....	83
Figure 3. Comparison between deltas of α -MSH/AgRP ratios and α -MSH/NPY ratio by LWL and HWL groups.....	83
Figure 4. (A) Neuropeptides concentrations associated to hyperleptinemia state causing the unfavorable energy balance control to homeostasis in adolescents with weight loss lower than 10% post treatment. (B) Neuropeptides concentrations associated to leptin medium levels causing the favorable energy balance control to homeostasis in adolescents with weight similar or higher than 10% post treatment.....	86

Artigo 3:

Figure 1. Design of study.....	101
Figure 2. Correlations between fat intake and orexigenic and anorexigenic ratios for all the sample.....	109

LISTA DE TABELAS

Artigo 1:

Table 1. Descriptive data of body composition and energy balance parameters on all volunteers and by gender..... 57

Table 2. Descriptive data of body composition parameters on different Tertile of α -MSH in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy 59

Table 3. Descriptive data of anorexigenic and orexigenic parameters on different Tertiles of α -MSH in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy..... 60

Table 4. Comparative data of anorexigenic and orexigenic parameters post treatment on different Tertiles of α -MSH in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy..... 61

Artigo 2:

Table 1. Descriptive data of body composition, anorexigenic and orexigenic parameters to all sample and on different groups of weight loss magnitude in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy 81

Table 2. Linear multiple regression for determinants of change in the body fat (%) in the entire group 84

Artigo 3:

Table 1. Descriptive data and comparison of baseline and post-intervention body composition, anorexigenic and orexigenic parameters in the >E-DII and <E-DII groups 107

Table 2. Descriptive data and comparison of baseline and post intervention dietary intake in the >E-DII and <E-DII groups 108

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABESO	Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade
Acetil coA	Acetil coenzima A
ACSM	American College Sports Medicine
AFIP	Associação de Incentivo a Pesquisa
AGLs	Ácidos graxos livres
AgRP	Peptídeo relacionado ao gene <i>agouti</i> / agouti-related peptide
AMPc	Monofosfato cíclico de adenosina
ARC	Núcleo arqueado do hipotálamo
ANP	Peptídeo natriurético atrial
BAIBA	Ácido β -aminoisobutírico
BMI	Body mass index
BNP	Peptídeo natriurético ventricular tipo B
CART	Peptídeo relacionado a anfetamina e cocaína / Cocaine and amphetamine regulated transcript
CEPE	Centro de Estudos em Psicobiologia e Exercício
CID-10	Classificação Internacional de Doenças
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DP	Desvio padrão
DRI's	Dietary Reference Intakes
EHNA	Esteatose Hepática Não-alcólica
E-IID	Índice Inflamatório da Dieta
E-DII	Dietary Inflammatory Index
EIMc	Espessura íntima média da carótida
ERS	Estresse de retículo endoplasmático
FC_{máx}	Frequência cardíaca máxima
FGF-21	Fator de crescimento de fibroblastos 21
GEO	Grupo de Estudos da Obesidade
GH	Hormônio do crescimento
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon-1

GLUT-4	Transportador de glicose tipo 4
HDL-c	High density lipoprotein
HWL	High weight loss
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IKK	Quinase do inibidor do NF- κ B
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de massa corporal
IRS-1	Substrato 1 dos receptores de insulina
JNK	Quinase c-Jun N-terminal
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LDL-c	Low density lipoprotein (Lipoproteína de baixa densidade)
LV1	Limiar ventilatório 1
LV2	Limiar ventilatório 2
LWL	Low weight loss
LPS	Lipopolissacarídeos
MC	Melanocortin System
MC3R	Receptor de melanocortina 3
MC4R	Receptor de melanocortina 4
MC5R	Receptor de melanocortina 5
MCH	Hormônio concentrador de melanócitos / Melanin-concentrating hormone
MUFAs	Gordura monoinsaturada / Mono-unsaturated fat
NPY	Neuropeptídeo Y / Neuropeptide Y
NCD	Risk Factor Collaboration
OBRb	Receptor de leptina
OMS	Organização mundial da saúde
PA	Pressão arterial
PeNSE	Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
PGC1α	Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha
PI3-quinase/AKT	Fosfatidilinositol 3-quinase/ proteína quinase b
PN	Peptídeo natriurético
PNAN	Pesquisa Nacional de Alimentação e Nutrição

POMC	Pró-opiomelanocortina / Proopiomelanocortin
PTP1B	Proteína tirosina fosfatase 1B
PUFAs	Gordura poli-insaturada / Poly-unsaturated fat
PYY	Peptídeo YY
P38MAPK	Proteínas cinases ativadas por mitogênio P38
RI	Resistência insulínica
RMf	Ressonância magnética funcional
SFAs	Gordura saturada/ Saturated fat
SM	Síndrome metabólica
SOCS-3	Supressor de sinalização citocina
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático
STAT3	Proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3
TAM	Tecido adiposo marrom
TAB	Tecido adiposo branco
TG	Triglicerídeos
TLR4	Toll-like receptor 4
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa
UCP-1	Proteína desacopladora 1
UPR	Resposta proteica desdobrada
VIGITEL	Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico
VLDL-c	Very low-density lipoprotein
VO₂máx	Consumo máximo de oxigênio
WHO	World Health Organization
α-MSH	Hormônio estimulante de melanócito / Alpha-melanocyte- stimulating hormone

RESUMO

Introdução: A obesidade é caracterizada como uma doença complexa, multifatorial e crônica, com consequências biológicas e sociais desencadeadoras de diversas comorbidades. O balanço energético positivo atua como um fator que desregula as vias de sinalização orexígenas (Neuropeptídio Y – NPY e Peptídeo relacionado ao gene *agouti* - AgRP) e anorexígenas (Hormônio estimulante de melanócito - α -MSH) controladoras da fome e saciedade, aumentando a quantidade e o tamanho das células adiposas; modificando a ação das adipocinas (Leptina e Adiponectina), e influenciando negativamente a fisiopatologia da obesidade. Devido à escassez de estudos com humanos, principalmente em populações pediátricas, o comportamento de variáveis do balanço energético em protocolos para emagrecimento em diferentes faixas etárias ainda permanece pouco elucidado. **Objetivos:** Avaliar em adolescentes com obesidade submetidos a terapia interdisciplinar para emagrecimento de longo prazo a influência dos níveis séricos iniciais do neuropeptídeo anorexígeno α -MSH, bem como a influência do percentual de redução de peso corporal e do consumo de gordura alimentar/Índice Inflamatório da Dieta (E-IID) na modulação de fatores anorexígenos e orexígenos do balanço energético. **Métodos:** Foram selecionados 148 adolescentes de ambos os sexos, com idades entre 14 e 19 anos, classificados com obesidade de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC) por gênero e idade da Organização Mundial da Saúde (OMS), e estadiamento puberal 5, de acordo com a classificação de Tanner. Os voluntários foram submetidos a 1 ano de terapia interdisciplinar com acompanhamento endocrinológico, psicológico, nutricional, fisioterapêutico e, treinamento físico supervisionado. Após a seleção inicial e período de intervenção, os voluntários realizaram avaliações da composição corporal e coletas sanguíneas para análise dos marcadores séricos metabólicos, hormonais e do balanço energético (MCH - hormônio concentrador de melanócitos, AgRP, NPY, α -MSH, Leptina e Adiponectina). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Statistica versão 7.0, adotando $p \leq 0,05$.

Resultados:

Artigo 1 – 110 participantes concluíram o tratamento e foram divididos após a terapia em de acordo com tercil inicial dos níveis séricos de α -MSH: Tercil 1 ($< 0,75$ ng/ml; $n=37$); Tercil 2 ($\geq 0,75$ to $\leq 1,57$ ng/ml; $n=40$); Tercil 3 ($> 1,57$ ng/ml; $n=36$). O tratamento promoveu melhora da gordura corporal e da massa livre de gordura para todos os grupos. Apenas no Tercil 3 foi observado um aumento da relação α -MSH/NPY e diminuição na

concentração de MCH, em comparação com os Tercis 1 e 2. No grupo com maior concentração de α -MSH foram observadas correlações negativas entre $\Delta\alpha$ -MSH/NPY com Δ NPY/AgRP, NPY e MCH.

Artigo 2 – 108 adolescentes completaram a terapia e foram analisados de acordo com a redução do peso corporal nos grupos baixa perda de peso (BPP: $<10\%$; $n=68$) e grupo alta perda de peso (APP: $\geq 10\%$; $n=40$). Os dois grupos apresentaram redução no peso corporal, IMC, gordura corporal, leptina, e aumento de massa livre de gordura. A variação do α -MSH foi menor no grupo BPP comparado ao grupo APP, sendo que os valores permaneceram positivos apenas no grupo com redução ponderal acima de 10% do peso corporal. O $\Delta\alpha$ -MSH/AgRP e $\Delta\alpha$ -MSH/NPY foram menores no BPP comparado ao APP. As concentrações de leptina chegaram a valores médios próximos a normalização somente no APP, e o Δ Leptina para o mesmo grupo foi maior comparado ao BPP. As variações dos neuropeptídeos orexígenos AgRP e NPY foram maiores no grupo com redução ponderal menor que 10% do peso corporal. Os deltas de peso corporal, α -MSH e Leptina foram associados a diminuição de gordura corporal e a fórmula: $Y = -14.01 + (0.28 \times \Delta\text{peso}) + (-1.72 \times \Delta\alpha\text{-MSH}) + (0.06 \times \Delta\text{Leptina})$, foi gerada.

Artigo 3 – Foram analisados o diário de três dias de 50 adolescentes classificados de acordo com aumento ($> E\text{-IID}$; $n=30$) ou diminuição ($< E\text{-IID}$; $n=20$) em seus escores de E-IID. Nos dois grupos, foi observado redução no peso corporal, gordura corporal e na massa livre de gordura. Os níveis de leptina também foram reduzidos em ambos os grupos, enquanto os valores de adiponectina aumentaram apenas no grupo $< E\text{-IID}$. Os níveis séricos de neuropeptídeos, as razões anorexígenas e orexígenas não mudaram após o tratamento no grupo $>E\text{-IID}$, enquanto no grupo $<E\text{-IID}$ houve uma redução significativa nos níveis de α MSH, MCH e NPY e um aumento na razão anorexigênica α MSH/NPY. Quando analisada a amostra toda foram encontradas correlações negativas entre Δ SFAs e $\Delta\alpha$ MSH/AgRP ($r = -0,35$; $p = 0,01$), Δ NPY/AgRP e Δ MUFAs ($r = -0,33$; $p = 0,01$) e PUFA's ($r = -0,31$; $p = 0,02$).

Conclusões: Em suma, a alta concentração de α -MSH promoveu melhor modulação de vias anorexígenas/orexígenas em adolescentes com obesidade após terapia de perda de peso a longo prazo. A perda de peso corporal menor que 10% parece ser desfavorável a normalização das funções dos neuropeptídeos séricos orexígenos e anorexígenos e a reversão da hiperleptinemia em adolescentes com obesidade. O modelo matemático apresentado que indica um possível prognóstico de perda de gordura corporal utilizando variações de peso corporal, α -MSH e leptina. Por fim, a diminuição do escore de E-IID

após terapia interdisciplinar a longo prazo para perda de peso parece estar relacionada à diminuição sérica de neuropeptídeos orexígenos e com aumento na razão anorexígena, resultando em um cenário mais favorável para o controle do peso e da ingestão de alimentos, bem como uma melhora do estado pró-inflamatório.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo gerado pelo balanço energético positivo predominantemente associado ao estilo de vida sedentário e aumento no consumo de alimentos calóricos, com impacto negativo na saúde corporal e emocional (Farooqi et al., 2014; Dâmaso et al., 2009). Classificada como doença de saúde pública, a obesidade vem atingindo tanto países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (WHO, 2015), afetando de forma preocupante idades precoces (de Onis, Blossner, Borghi, 2010; WHO, 2006).

No Brasil, segundo a pesquisa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a obesidade na adolescência aumentou 39% entre os anos de 2005 e 2010, acometendo 4,9% da população nesta faixa etária, somada a uma parcela de 20% de adolescentes que se encontravam em faixa de sobrepeso (IBGE, 2010). Em 2016, apesar de não serem publicados dados sobre adolescentes especificamente, a obesidade no Brasil aumentou 60% comparado ao ano de 2006 (VIGITEL, 2017).

O quadro alarmante dos índices crescentes de obesidade mundial traz à tona diversos aspectos a serem investigados por esta doença envolver inúmeros fatores que vão além do excesso de gordura corporal, como a influência no metabolismo ósseo, hepático e muscular, no sistema cardiovascular, respiratório, imunológico, neuroendócrino, entre outros (Sanches et al., 2014a; Dâmaso et al., 2014; Campos et al., 2013; Campos et al., 2012).

Sabe-se que o equilíbrio energético é mantido por meio de vários sinais fisiológicos centrais e periféricos, que regulam a ingestão de alimentos tanto a curto como a longo prazo, promovendo a homeostase entre o consumo e gasto de energia. O processo de fome e saciedade é regulado pelo núcleo arqueado do hipotálamo (ARC) através da estimulação de neuropeptídeos orexígenos (Neuropeptídeo Y – NPY e Peptídeo relacionado ao gene *agouti* - AgRP) e anorexígenos (Hormônio estimulante de melanócito - α -MSH), que é influenciada central e periféricamente de tal forma que, quando essas vias são desreguladas, o balanço energético pode se tornar positivo (Fuqua, Rogol, 2013; Morton et al., 2006).

Dois hormônios orquestram esse processo de sinalização hipotalâmica de forma antagônica, a leptina, liberada pelo tecido adiposo e considerada como hormônio da saciedade, e a grelina, liberada pelo estômago em resposta a fome (Klok et al., 2007). Estudos prévios mostraram que adolescentes com obesidade possuem

alta prevalência de hiperleptinemia, fator importante para gerar resistência hipotalâmica a sua ação, e níveis séricos de NPY, AgRP e α -MSH desregulados, caracterizando desequilíbrio da regulação neuroendócrina do balanço energético. Nestes estudos foram observados que a redução do peso corporal é acompanhada de maior sensibilidade à leptina, devolvendo a responsividade à sua função e, da diminuição na expressão de marcadores séricos orexígenos e aumento da estimulação anorexígena pós tratamento (Sanches et al., 2014b; Carnier et al., 2013; Dâmaso et al., 2011; Oyama et al., 2010).

Embora haja grande desenvolvimento científico sobre o tema obesidade, o entendimento de alguns mecanismos fisiológicos responsáveis por modular o controle neuroendócrino do balanço energético acessível à prática clínica ainda é escasso, principalmente relacionando estudos com humanos e populações pediátricas.

Revisão de Literatura

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Definição e classificação da obesidade

A obesidade é definida atualmente como uma doença complexa, crônica e multifatorial que se caracteriza pelo acúmulo de tecido adiposo e inflamação de baixo grau desencadeada por fatores endógenos e exógenos que afetam o balanço energético, e levam ao desenvolvimento de comorbidades associadas a taxas de morbidade e mortalidade (WHO, 2015; Dâmaso et al., 2009; de Onis, Blossner, Borghi, 2010; WHO, 2006). É categorizada, na 10ª revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID-10), no item de doenças endócrinas, nutricionais e metabólicas (WHO, 2000).

Para a avaliação e diagnóstico nutricional da criança (a partir dos 5 anos) e do adolescente são utilizadas as curvas de crescimento, proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS)/World Health Organization (WHO), que avaliam o índice antropométrico de Índice de Massa Corporal (IMC) para idade, ajustado por gênero e idade, levando-se em consideração o Percentil e Escore Z (WHO, 2007). Apesar do avanço de métodos envolvendo a composição corporal como diagnóstico e acompanhamento da obesidade, o IMC, calculado através do peso corporal (kg)/m², é um método prático, simples e de muito baixo custo, muito utilizado para avaliar o estado nutricional em nível populacional (ABESO, 2016).

2.2 Epidemiologia da obesidade

A Organização Mundial da Saúde considera a obesidade como uma epidemia mundial condicionada principalmente pelo perfil alimentar negativo e baixos níveis de atividade física (WHO, 2000). Em âmbito mundial, entre 1980 e 2014, a proporção de indivíduos com obesidade cresceu alarmantemente. Atualmente, a obesidade afeta 78,6 milhões de pessoas, gerando uma prevalência aproximada de 30% da população mundial acometida por essa doença. Projeções recentes apontam que em 2020, mais de 60% da população mundial terá excesso de peso ou obesidade.

No Brasil, as estimativas de prevalência de obesidade, segundo o Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), aumentaram de 15% para 18% de 2010 a 2014, na população

adulta em ambos os sexos. Mesmo com a detecção de um quadro grave na população brasileira em 2010, por meio do censo do IBGE, os dados atuais mostram que o crescimento da população acometida pela obesidade foi bastante significativo mesmo em meio a programas de prevenção e tratamento (VIGITEL, 2017).

Para a faixa etária pediátrica, no ano de 2013, os dados da OMS apontam que no mundo 42 milhões de crianças menores de 5 anos de idade estavam com sobrepeso ou obesidade (WHO, 2015). O relatório do estudo de colaboração para risco de doenças não transmissíveis, *Risk Factor Collaboration* (NCD) de 2016 que relacionou a análise conjunta dos dados do estudo publicados de 1975 a 2016, indica um aumento na prevalência de obesidade padronizada por idade entre crianças e adolescentes com idades entre 5 e 19 anos (Figura 1) (NCD et al., 2016; NCD, 2017).

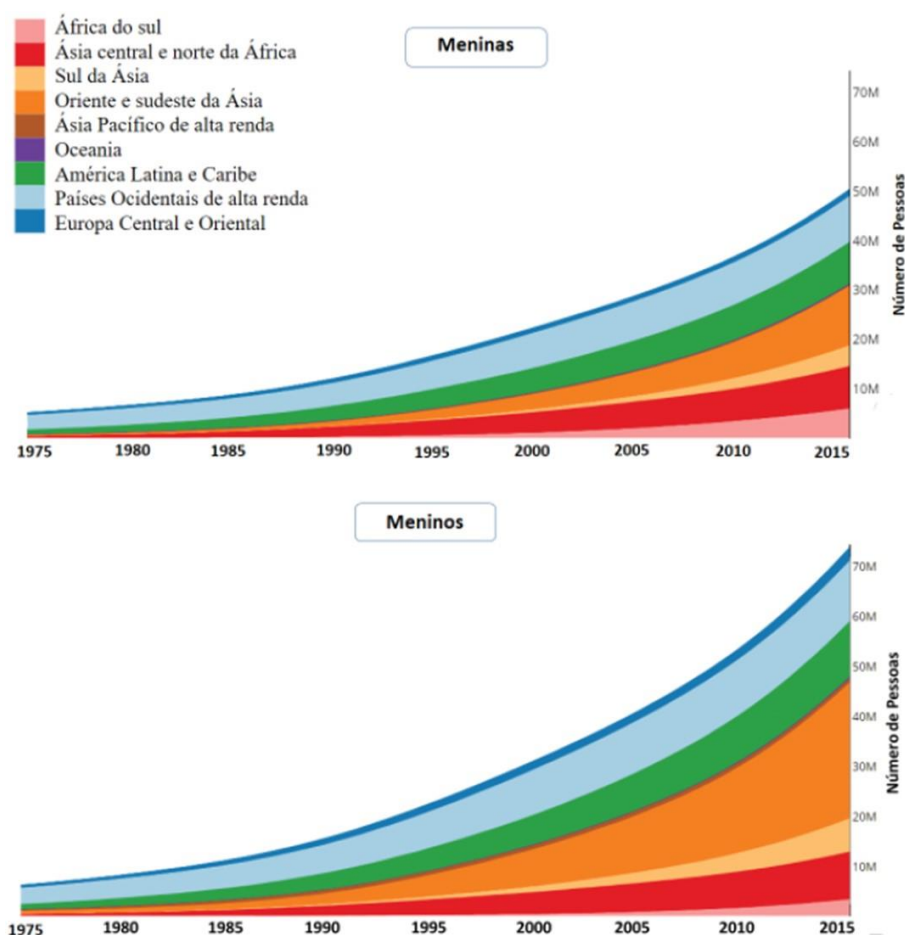


Figura 1. Crescimento da obesidade em crianças e adolescentes de 1975-2016. Fonte: <http://www.ncdrisc.org/obesity-prevalence-map%20ado.html>. Acessado em 05 de fevereiro de 2020.

No Brasil, os dados do último censo do IBGE, apontaram mais da metade da população adulta com excesso de peso sendo que, nesses dados, 20% dos

adolescentes apresentavam sobrepeso e 4,9% obesidade. Quando separados por gênero e comparados com os censos de anteriores, a prevalência de obesidade em meninas de 10 a 19 anos aumentou de 0,7% para 4% e para meninos de 0,4% para 5,9%, entre os anos de 1975 e 2009 (Figura 2).

Evolução de indicadores antropométricos na população de 10 a 19 anos de idade, por sexo Brasil - períodos 1974-1975, 1989 e 2008-2009

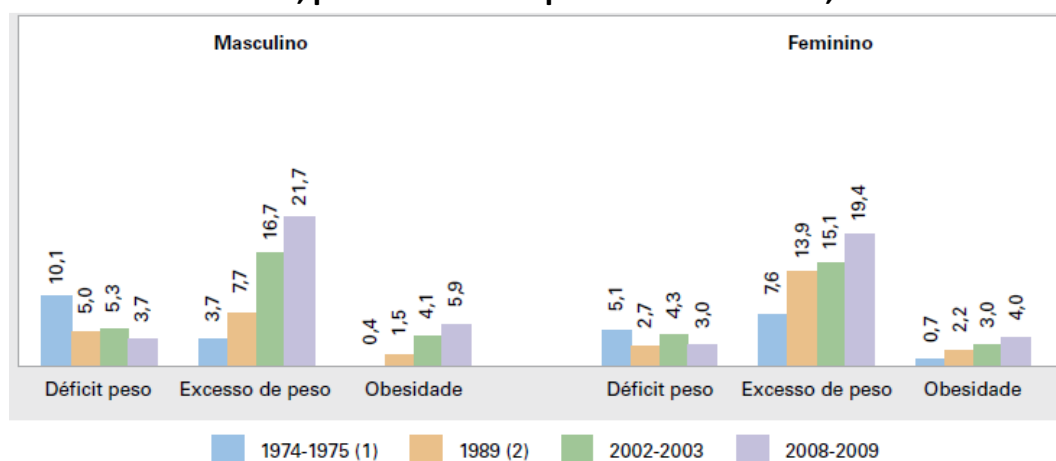


Figura 2. Evolução de indicadores antropométricos da população brasileira de 5 a 19 anos - Adaptada de IBGE (2010). Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Estudo Nacional da Despesa Familiar 1974-1975 e Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009; Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição, Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição 1989.

Nos países em desenvolvimento, com economias emergentes (classificados pelo Banco Mundial como países de renda média e baixa) como o Brasil, a taxa de aumento de sobrepeso e obesidade na infância tem sido 30% superior em relação a países desenvolvidos, de acordo com os dados da OMS (WHO, 2015). O crescente aumento da obesidade infantil agrava o quadro geral de saúde pública pelos índices de persistência da patologia na vida adulta chegarem a 80%, aumentando o risco de desenvolvimento de comorbidades desencadeadas pela obesidade e da associação de curto e longo prazo com desfechos mórbidos (Gungor, 2014).

2.3 Etiologia da obesidade

O entendimento da complexidade, da multifatoriedade e das consequências da obesidade tem papel chave na estratégia populacional adotada para o seu combate e tratamento pois, a tornam uma doença de etiologia variada, abordando em sua gênese fatores ambientais, culturais, metabólicos e hormonais, determinados por variáveis

sociais, genéticas, psicológicas, de nível de atividade física e consumo alimentar em constante investigação e crescimento (Figura 3) (Gungor, 2014; Bass, Eneli, 2015).

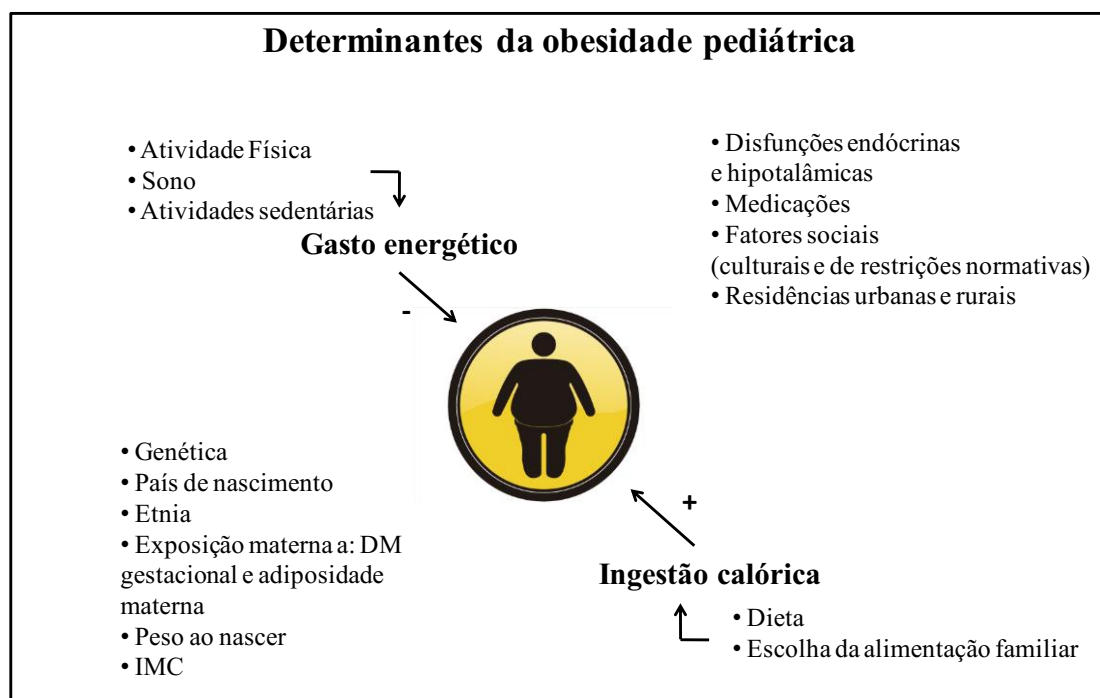


Figura 3. Determinantes da obesidade pediátrica - Adaptada de Gungor (2014). DM: Diabetes Mellitus; IMC: Índice de Massa Corporal.

Esses fatores podem ser classificados como exógenos, relacionados aos aspectos ambientais que interferem na gênese da obesidade, somando 95% dos casos e responsáveis pelo rápido crescimento da prevalência de obesidade e, endógenos, ligados a alterações neuroendócrinas e genéticas que englobam 5% da gênese da obesidade (Ramachandrappa, Farooqi, 2011; Raj e Kumar, 2012; Gungor, 2014).

Na gênese exógena, os determinantes da obesidade vão além do balanço energético afetado por alta ingestão calórica e diminuição do gasto por atividade física, em que outros parâmetros tornam-se merecedores de atenção, principalmente na infância e na adolescência (Han, Lawlor, Kimm, 2010; Bass, Eneli, 2015; Gungor, 2014; Katzmarzyk et al., 2014). Aspectos relacionados ao país de nascimento, socioeconômicos e moradias urbanas e rurais, desenvolvimento eletrônico, acesso a alimentos industrializados, preferências por grupos de alimentos pré-estabelecidos, entre outros, determinam hábitos prévios de famílias em relação a consumo alimentar e gasto energético (Gungor, 2014).

Os aspectos citados reforçam o grave problema com o consumo inadequado de alimentos e baixo nível de atividade física, que vão contra o gasto e consumo energético adequados que compõe o balanço energético estável. O desenvolvimento de hábitos inadequados como baixo fracionamento de refeições, escolha por alimentos com alto teor de gordura e açúcar se correlacionam com a gênese da obesidade no período da adolescência por muitas vezes estarem acompanhados do baixo consumo de alimentos fontes de fibras, vitaminas e minerais (Han, Lawlor, Kimm, 2010). O documento oficial da Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) do ano de 2013 mostra que, no Brasil, o adolescente possui o pior perfil alimentar comparado a outras faixas etárias, com maior consumo de alimentos industrializados, de alta densidade energética e baixo consumo de alimentos básicos como arroz e feijão (PNAN, 2013).

No ano de 2009, dados publicados pela Pesquisa Nacional de Saúde do Escolar (PeNSE), apontaram separadamente quais os principais indicativos alimentares de risco a saúde e de proteção a saúde para alunos do nono ano do ensino fundamental. Os dados mostraram que como fatores de risco a saúde o consumo semanal de embutidos (78,3%) e guloseimas (92%) e, que mais da metade dos estudantes tinha o hábito de comer enquanto assistia à televisão ou estudava, em cinco dias da semana ou mais. Separados por gêneros, foi observado que meninas apresentaram maior regularidade e proporção no consumo de guloseimas, biscoitos doces e embutidos; e meninos, maior proporção da prática de comer enquanto assistia à televisão ou estudava. Como fator importante de proteção à saúde, foi constatado que a maioria dos estudantes realizava em cinco ou mais dias na semana, pelo menos uma das principais refeições na presença da mãe ou responsável (Levy et al., 2010).

O desenvolvimento da sociedade atual trouxe muitos benefícios e facilidades à população que agregaram progressos e melhorias em geral ao estilo de vida. Porém, o desenvolvimento dos meios de transporte e tecnologias em geral contribuiu positivamente para o aumento de hábitos sedentários e diminuição do gasto energético por atividades físicas cotidianas da sociedade (Ferrari et al., 2017; Guedes et al., 2019). A redução no nível de atividade física diária se correlaciona com a redução do metabolismo basal, levando ao aumento na deposição de gordura abdominal, favorecendo assim o desenvolvimento e perpetuação da obesidade (Sanches, Tock, Dâmaso, 2012).

Nesse contexto, os adolescentes são os maiores consumidores de fatores pró sedentarismo como mídias sociais, televisão, computador, celulares, entre outros, que reforçam o comportamento inativo, diminuindo o gasto energético diário e contribuindo para gênese e manutenção da obesidade (Beighle, Morrow, 2017; Guedes et al., 2019).

Beighle e Morrow (2017) discutem que a inatividade física está relacionada ao meio social em que a população está inserida e o perfil socioeconômico, sendo essas barreiras mais difíceis de serem superadas entre adolescentes, por possuírem controle limitado dessas circunstâncias. Nessa perspectiva, Guedes e colaboradores (2019) apontam que a escassez de políticas públicas destinadas às atividades culturais em momentos de lazer, contribuem de forma significativa para redução de atividade física entre adolescentes e motivam o engajamento em atividades sedentárias.

Dentre os fatores endógenos do desenvolvimento da obesidade, os genéticos podem contribuir para cerca de 70% dos casos, e estar presentes em condições extremamente raras como mutações nas vias de sinalização da leptina e através de síndromes que se associam a hiperfagia como é o caso da síndrome Prader Willi (Ramachandrapa, Farooqi, 2011; Raj, Kumar, 2012). Além disso, a exposição a doenças durante a gestação, o peso ao nascer e as primeiras etapas da alimentação estão associados a maior risco de desenvolvimento de obesidade e de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) em idades precoces (Katzmarzyk et al., 2014).

2.4 Regulação neuroendócrina do balanço energético

Entende-se como balanço energético a razão entre o gasto e consumo de energia. O equilíbrio energético é mantido através de vários sinais fisiológicos centrais e periféricos que regulam a ingestão de alimentos, tanto a curto quanto a longo prazo, promovendo homeostase entre a ingestão alimentar e o gasto de energia (Fuqua, Rogol, 2013; Dâmaso et al., 2009).

A regulação neuroendócrina do balanço energético é feita pelo ARC que se conecta com sinais provenientes do tecido adiposo, estômago, intestino delgado e grosso, do pâncreas e do fígado, e do controle hedônico, em que o sistema nervoso central (SNC) avalia informações periféricas e de outras áreas encefálicas. Essa rede complexa de conexões neurais com os sinais periféricos é orquestrada por dois principais hormônios envolvidos no processo de saciedade e fome, a leptina e a

grelina, respectivamente. Esses hormônios são responsáveis por estimularem centralmente vias anorexígenas, que sinalizarão a inibição do apetite e aumento do gasto energético, e orexígenas, que possuem ação contrária (Figura 4) (Klok et al., 2007).

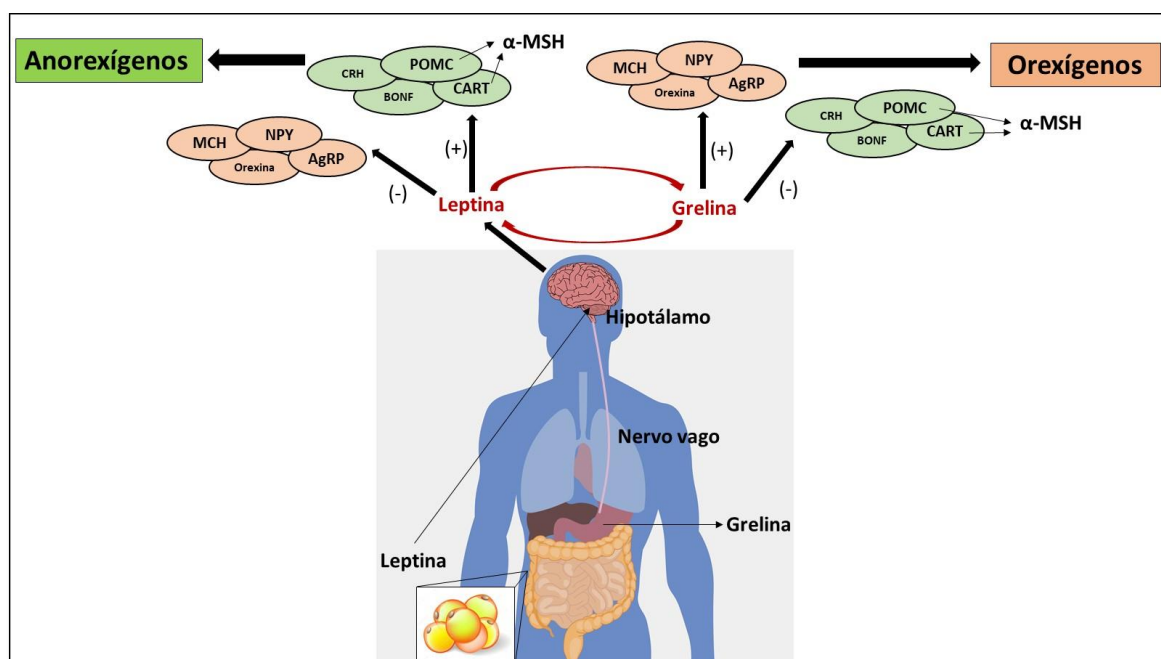


Figura 4. Papel da Leptina e Grelina na sinalização de neuropeptídeos anorexígenos e orexígenos. - Adaptada de Klok et al. (2007).

A leptina é um hormônio peptídico expresso principalmente nas células adiposas em resposta a ingestão alimentar, e possui grande influência no balanço energético e prevenção da obesidade. O tecido adiposo é considerado um órgão endócrino, que produz e secreta diversos compostos peptídicos e não peptídicos controladores do processo de ingestão alimentar, homeostase energética, sensibilidade a insulina, angiogênese, proteção vascular, regulação da pressão arterial (PA) e coagulação sanguínea, além de expressar receptores que permitem responder aos sinais aferentes do sistema hormonal tradicional e do SNC (Fuqua, Rogol, 2013; Galic, Oakhill, Steinberg, 2010; Dâmaso et al., 2009; Morton et al., 2006).

Em indivíduos eutróficos, a leptina circula em níveis proporcionais à gordura corporal, mostrando sua capacidade de responder ao aumento de peso e estado de energia (Roff, Jappy, 2017). É responsável por sinalizar ao hipotálamo os sinais de saciedade, estimulando a produção de peptídeo relacionado a anfetamina e cocaína (CART) e pró-opiomelanocortina (POMC), principal precursor de α -MSH,

importante controlador do balanço energético (Bischoff et al., 2012; Vendrell et al., 2004; Klok et al., 2007).

A expressão da leptina é controlada principalmente pelo aumento na liberação de insulina em estado alimentado, inibindo a ingestão alimentar e controlando o metabolismo de glicose e gordura. Assim, a insulina, que é um hormônio produzido nas ilhotas pancreáticas envolvido na regulação do metabolismo de glicose e a vias anorexígenas, juntamente com a leptina, inibem o apetite (Bischoff et al., 2012; Vendrell et al., 2004; Seufert et al., 1999).

Com a liberação de leptina, vias orexígenas do controle neuroendócrino do balanço energético são inibidas pela diminuição na expressão de NPY e AgRP. Assim, no ARC, essas duas populações de neurônios (orexígenos: NPY e AgRP; anorexígenos: POMC e CART) são responsivas à ação da leptina de forma antagonista, pois ambos expressam receptores de leptina (OBRb), facilitando em condições fisiológicas sua passagem pela barreira hemato-encefálica, sendo as vias de transdução de sinais a proteína transdutora de sinal e ativadora de transcrição 3 (STAT3) e a fosfatidilinositol 3-quinase/ proteína quinase b (PI3-quinase/AKT). Isso ocorre através de uma complexa cascata de auto fosforilações cruzadas, após a ligação da leptina com o seu receptor. Concomitantemente, a leptina inibe o Hormônio controlador de melanina (MCH), marcador orexígeno que reduz a hiperfagia, o que está associado à diminuição do peso corporal e da adiposidade. Além disso, a leptina inibe a liberação de neurônios AgRP, o que também contribui para o aumento do gasto energético e menor adiposidade corporal (Moehlecke et al., 2016; Boguszewski et al., 2010).

O jejum fisiológico produz um quadro de ativação de vias orexígenas, tendo como principal peptídeo envolvido no processo pré prandial a grelina, que aumenta a expressão de NPY e AgRP. Produzida no estômago, a grelina é conhecida como “hormônio da fome” pelo aumento das concentrações sanguíneas se associar com o início da refeição (Daniels et al., 2005). A ação hormonal da grelina se dá via sinalização do SNC, aumentando a ingestão alimentar e estimulando a adipogênese no tecido adiposo, o que pode reduzir o gasto energético. Este hormônio também atua aumentando a produção do hormônio do crescimento (GH), o controle da secreção ácida e da motilidade gástrica, influência sobre a função endócrina pancreática e metabolismo da glicose (Bischoff et al., 2012; van der Lely et al., 2004; Seufert et al., 1999).

O intestino também é responsável por sinalizar peptídeos que interferem no processo de saciedade: Peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1) e peptídeo YY (PYY). Tanto o GLP-1 quanto o PYY são dependentes da ingestão alimentar, pois diminuem os processos de motilidade intestinal, e aumentam a saciedade, desencadeando a diminuição do apetite e ingestão de alimentos em indivíduos eutróficos (Figura 5) (Bischoff et al., 2012; Vendrell et al., 2004).

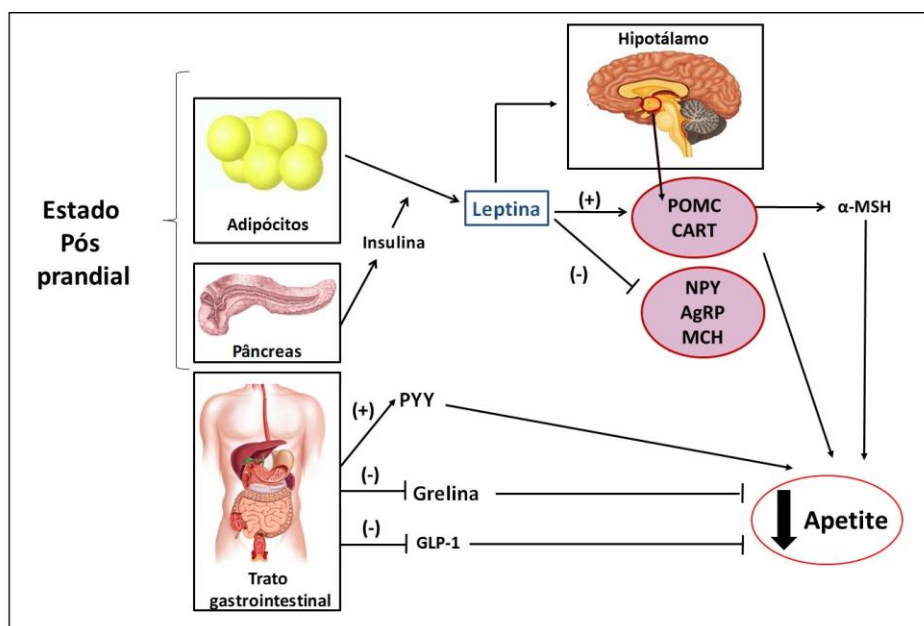


Figura 5. Regulação do balanço energético por mecanismos centrais e periféricos em estado pós-prandial. Em estado alimentado, a estimulação pancreática da insulina faz o intermédio da estimulação da leptina que acontece em proporção à quantidade de tecido adiposo. A leptina sinaliza ao hipotálamo a estimulação de neurônios da POMC e CART que estimulam a liberação de α -MSH, e inibindo a estimulação de vias orexígenas por meio dos neuropeptídeos NPY e AgRP, inibindo os sinais de fome. A nível gastrointestinal, o aumento da liberação de PYY concomitante a inibição da grelina e GLP-1 participam do processo fisiológico da inibição do apetite. CART: Peptídeo relacionado a anfetamina e cocaína; POMC: Pró-opiomelanocortina; α -MSH: Hormônio estimulador de alpha melanócito; AgRP: Peptídeo relacionado ao gene *agouti*; NPY: Neuropeptídeo Y; MCH: hormônio concentrador de melanócitos; PYY: Peptídeo YY; GLP-1: Peptídeo semelhante ao glucagon-1.

Além dos hormônios anteriormente mencionados, algumas adipocinas também influenciam o metabolismo glicídico e lipídico, entre estes, a adiponectina, que possui função anti-inflamatória. Este hormônio desempenha diversos papéis positivos, tanto ao balanço energético quanto processos fisiológicos. Sua influência está no metabolismo muscular e hepático através da sensibilização insulínica, diminuindo a produção de glicose hepática e de triglicerídeos nos músculos, aumentando a atividade do acetil coenzima A (acetil coA) e consequentemente a β -oxidação, estimulando o transportador de glicose 4 (GLUT-4) para a membrana da

célula muscular. Os benefícios da adiponectina se dão também por sua propriedade antiaterogênica, através da inibição do fator de necrose tumoral α (TNF α) modulando a resposta inflamatória (Yamauchi et al., 2014; Vendrell et al., 2004).

2.5 Alterações no balanço energético em obesidade e comorbidades

2.5.1 Resistência a leptina e modulação neuroendócrina

O balanço energético positivo caracterizado como o consumo calórico maior que o gasto energético, atua como um fator que desregula vias de sinalização centrais e periféricas do processo de controle da fome e saciedade, aumentando a quantidade e o tamanho de células adiposas, modificando a função das adipocinas, e potencializando processos nocivos a saúde, iniciando a gênese da obesidade (Sanches et al., 2014; Dâmaso et al., 2009; Morton et al., 2006; Trayhurn; Wood, 2004).

A maioria dos casos de obesidade se associa a um quadro de resistência central à ação da leptina e da insulina. O aumento na deposição de tecido adiposo estimula a liberação de resistina, adipocina que está diretamente relacionada com desenvolvimento de resistência à ação da insulina (Trayhurn; Wood, 2004), e pode aumentar consideravelmente a liberação de leptina.

Em pessoas com obesidade, independente da faixa etária, a leptina apresenta-se aumentada na proporção do tecido adiposo, e desse modo, a presença de hiperleptinemia está associada à sua provável resistência, dificultando tanto a regulação do estado de fome, saciedade em nível central, quanto o aumento periférico do gasto energético e inflamação (Sanches et al., 2014b; Dâmaso et al., 2011; Roff; Jappy, 2017). Assim, estudos sugerem que o período de exposição do cérebro, especialmente o hipotálamo, a um nível elevado de leptina pode resultar no desenvolvimento de resistência central à leptina (Moehlecke et al., 2016; Roff; Jappy, 2017).

A resistência central da leptina pode ser explicada por alguns mecanismos como os defeitos no transporte de leptina através da barreira hematoencefálica, diminuição ou alteração da sinalização nas células neurais, aumento da expressão de proteínas que bloqueiam a sinalização da leptina, tais como o supressor de sinalização citocina (SOCS-3), através do *feedback* negativo (Triantafyllou et al., 2016).

Nesse cenário, a resistência à ação da leptina faz com que o controle de neuropeptídeos orexígenos (AgRP e NPY) também não seja feito de forma eficiente, prejudicando a sinalização de vias anorexígenas (POMC, CART e α -MSH) que controlam a saciedade, e agem de forma antagônica à fome. A desregulação na expressão de neuropeptídeos na obesidade é base para a compreensão, tanto de mecanismos relacionados ao balanço energético positivo quanto a plasticidade do tecido adiposo, em resposta a alta ingestão calórica e baixos níveis de atividade física (Figura 6).

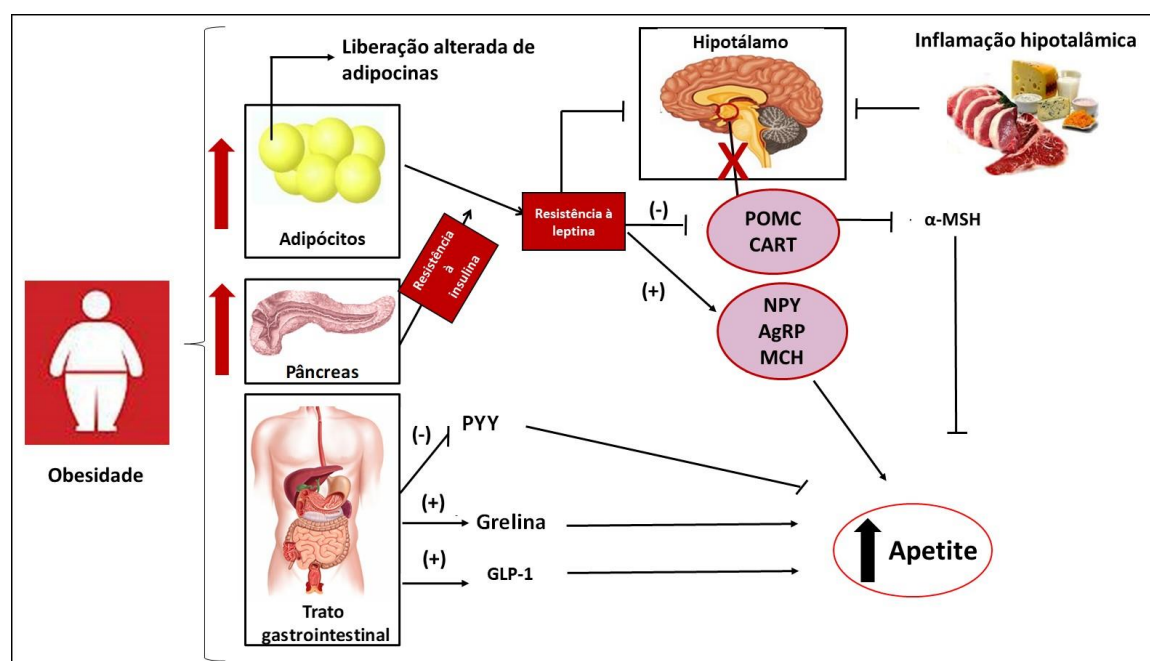


Figura 6. Mecanismos centrais e periféricos relacionados ao controle neuroendócrino do balanço energético na obesidade. O aumento da massa adiposa na obesidade gera o aumento da liberação de leptina, que é proporcional a quantidade de gordura corporal. Juntamente com a liberação aumentada de insulina os quadros de resistência a ação da leptina e da insulina se instalam. A resistência a ação da leptina também pode ser gerada pela inflamação hipotalâmica normalmente associada à gênese da obesidade ao alto consumo de gorduras saturadas. O não reconhecimento hipotalâmico da leptina faz com que vias anorexígenas não sejam estimuladas via neurônios da CART e POMC, que consequentemente não estimulam o aumento de α -MSH. As vias orexígenas orquestradas pelo aumento da liberação estomacal de grelina permanecer estimuladas via aumento da estimulação neuroendócrina de NPY e AgRP, estimulando o apetite e sensação de fome. CART: Peptídeo relacionado a anfetamina e cocaína; POMC: Pró-opiomelanocortina; α -MSH: Hormônio estimulador de alpha melanócito; AgRP: Peptídeo relacionado ao gene *agouti*; NPY: Neuropeptídeo Y; MCH: hormônio concentrador de melanócitos; PYY: Peptídeo YY; GLP-1: Peptídeo semelhante ao glucagon-1.

2.5.2 Obesidade, comorbidades, inflamação e impacto na modulação neuroendócrina

Em sua definição e fisiopatologia, a obesidade também é caracterizada como um processo inflamatório crônico em adipócitos, associado a modificação no padrão

de secreção de adipocinas e no hipotálamo, pelo aumento da expressão de proteínas de resposta inflamatória (De Souza et al., 2005; Madeira et al., 2017).

O acúmulo do tecido adiposo, especialmente o visceral, possui importante papel na inflamação e contribuição no desenvolvimento de comorbidades associadas a obesidade e da Síndrome Metabólica (SM). Esse acúmulo pode acontecer de forma hipertrófica ou hiperplásica, caracterizadas pelo aumento e tamanho das células adiposas, respectivamente. O aumento da massa adiposa na infância e início adolescência possui característica predominantemente hiperplásica, menos nociva à função adipocitária, porém sugere-se que na adolescência mediana e tardia a hipertrofia dos adipócitos aconteça em maior escala, sendo a característica mais importante dessas células quando ocorre o aumento de peso corporal acentuado (Parlee et al., 2014; Klöting, Blüher, 2014).

A hipertrofia dos adipócitos acarreta uma infiltração e ativação de macrófagos no tecido adiposo, por isso é considerada um processo chave na produção de marcadores inflamatórios uma vez que é desencadeada pela hipóxia local, estresse intracelular, autofagia e apoptose do tecido (Speretta, Leite, Duarte, 2014; Bullo et al., 2007). A ingestão calórica excessiva pode afetar além dos adipócitos diversos tipos de células como os miócitos, células endoteliais, hepatócitos, monócitos e macrófagos que atuam de forma geral na disfunção metabólica (Madeira et al., 2017; Parlee et al., 2014; Vendrell et al., 2004).

Esse processo acarreta a secreção alterada de adipocinas, o que pode levar ao aumento na ingestão alimentar e à redução do gasto energético através de ações no hipotálamo, como é o caso da resistência à ação da leptina, liberada em quantidade proporcional ao aumento do tecido adiposo. Reflexos dessas alterações são vistos nos níveis de $TNF\alpha$, interleucina 6 (IL-6) e resistina classificadas como citocinas pró-inflamatórias; adiponectina, de ação anti-inflamatória; angiotensina, peptídeo que influencia o controle da PA; e ácidos graxos livres, que apresentam secreção alterada e potencializam processos inflamatórios (Trayhurn, Wood, 2004; Vendrell et al., 2004).

O aumento de $TNF\alpha$ tem sido associado à infiltração de macrófagos M1 no tecido adiposo, e não somente ao aumento da quantidade de adipócitos. O aumento dessa citocina impacta diretamente a diminuição da expressão de GLUT-4 a superfície celular, a fosforilação do substrato 1 dos receptores de insulina (IRS-1) e fosforilação específica do receptor da insulina. Assim, o $TNF\alpha$ parece ter papel

importante na fisiopatologia da resistência à insulina e consequentemente do Diabetes Mellitus tipo II (DM2) (Speretta, Leite, Duarte, 2014; Arslan, Erdur, Aydin, 2010) (Figura 7).

O importante destaque à geração de comorbidade advindas da obesidade se dá principalmente à instalação da SM, caracterizada como uma constelação de anormalidades fisiológicas, bioquímicas, clínicas e metabólicas, geradas por obesidade abdominal, níveis séricos de triglicerídeos elevados, baixa concentração de lipoproteína de baixa densidade (HDL-c), pressão arterial elevada e resistência à insulina (Kaur, 2014; Johnson et al., 2013). Desse modo, a instalação do quadro inflamatório crônico surge como um potencial desencadeador de SM possivelmente explicada pela relação bidirecional existente entre inflamação crônica de baixa intensidade e resistência insulínica (RI) (Kaurk, 2014; Dâmaso et al., 2009).

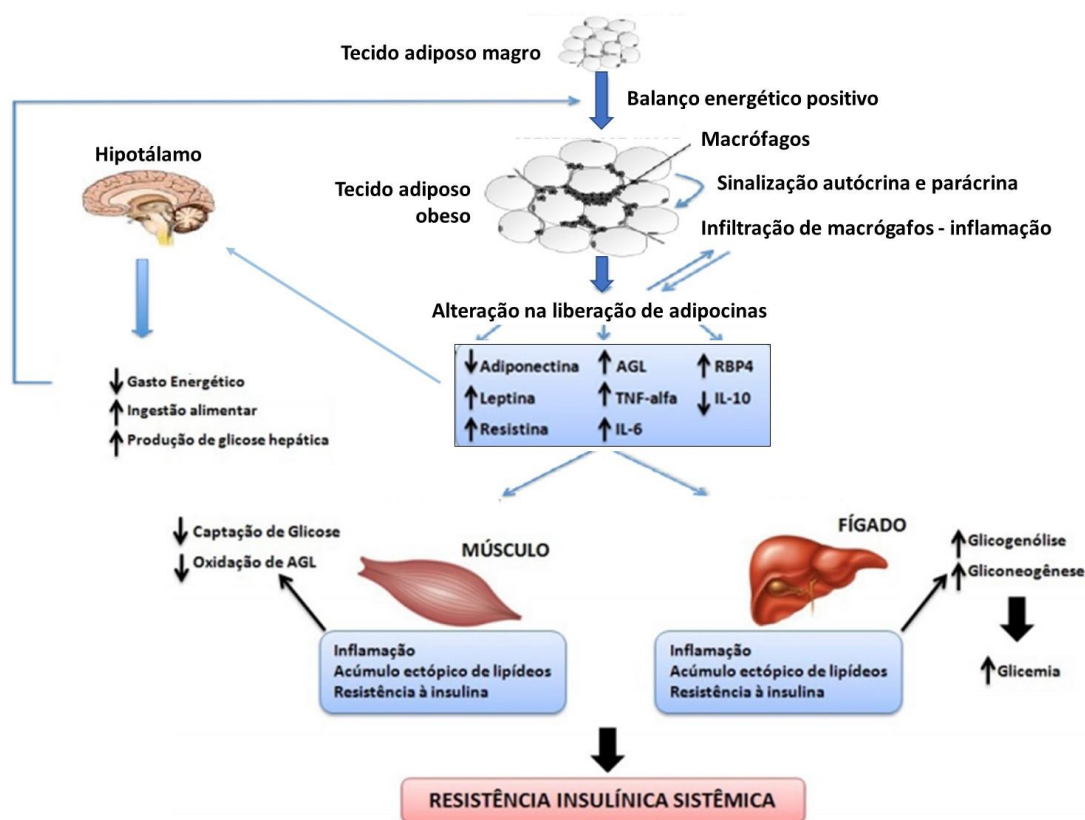


Figura 7. Inflamação adipocitária e resistência insulínica sistêmica. Hipertrofia do tecido adiposo induz a infiltração e proliferação de macrófagos e alteração na secreção de adipocinas levando à inflamação crônica de baixa intensidade. Este quadro, associado ao aumento de ácidos graxos livres circulantes, provoca aumento de ingestão alimentar, diminuição do gasto energético, além da alteração na homeostase de tecidos periféricos, como músculo e fígado, promovendo acúmulo ectópico de gordura, inflamação e resistência à insulina – Adaptada de Galic, Oakhill e Steinberg (2010).

Posteriormente a descoberta da inflamação adipocitária de baixo grau, de ação periférica, a inflamação central que atinge o hipotálamo foi relatada, sugerindo-se a inflamação hipotalâmica como possível influenciador local da resistência à leptina e à insulina. De Souza e colaboradores (2005) descreveram pela primeira vez um fenômeno inflamatório no hipotálamo semelhante ao adipocitário, e reportaram um padrão aumentado da expressão de proteínas de resposta inflamatória, dentre elas TNF α e IL-6, acompanhado da ativação de proteínas quinases sensíveis à inflamação, como a quinase c-Jun N-terminal (JNK) e a quinase do inibidor do NF- κ B (IKK), após 16 semanas de dieta hiperlipídica em ratos. Estudos sequenciais apontaram que outros mecanismos poderiam estar envolvidos no processo de RI e da leptina, dentre eles, a indução de proteínas como a proteína SOCS-3 e a proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), que funcionam como inibidores fisiológicos da sinalização por esses hormônios (Reed et al., 2010; Picardi et al., 2008; Bence et al., 2006).

A importância dos estudos da inflamação hipotalâmica tem sido descrita não só como derivada dos processos da obesidade já instalada, mas sim como fator importante na gênese da obesidade. Estudos apontam que o consumo de dietas hiperlipídicas pode ser responsável pelos potenciais mecanismos envolvidos no desencadeamento do processo inflamatório no hipotálamo. Assim, foi descrito que a conexão entre os ácidos graxos e a inflamação hipotalâmica pode estar relacionada a ativação do Toll-like receptor 4 (TLR4) e o estresse de retículo endoplasmático (ERS) (Dragano et al., 2017; Hotamisligil, 2010; Milanski et al., 2009).

A deleção dos receptores TLR4 é capaz de proteger contra o desenvolvimento de resistência à insulina e à leptina e, de obesidade induzida por dieta. Já a ativação dos TLR4 parece estar diretamente ligada à inflamação local por reconhecerem os lipopolissacarídeos (LPS) (Hotamisligil, 2010; Milanski et al., 2009). Os LPS são conhecidos como moléculas altamente tóxicas derivadas da membrana celular externa de bactérias gram-negativas e considerados os principais fatores responsáveis pelas manifestações tóxicas de infecções por bactérias gram-negativas bem como por inflamação sistêmica (Cruz-Machado, 2010).

Já o ERS quebra a sua homeostase em células centrais, que para lidarem com essa condição, ativam um sistema de sinalização complexo conhecido como resposta proteica desdobrada (UPR), gerando indução da expressão de citocinas e proteínas envolvidas na vigilância imune. Assim, o ERS está diretamente ligado à resposta da resistência à ação central da leptina (Dragano et al., 2017; Hotamisligil, 2010;

Lehnardt et al., 2003). Milasni e colaboradores (2009) demonstraram que ácidos graxos saturados ativam a sinalização de TLR4 e que o ERS parece ser gerado como consequência do processo, apontando o TLR4 como importante mediador da disfunção hipotalâmica associada ao consumo de dieta rica em ácidos graxos saturados, durante a instalação da obesidade (Figura 8).

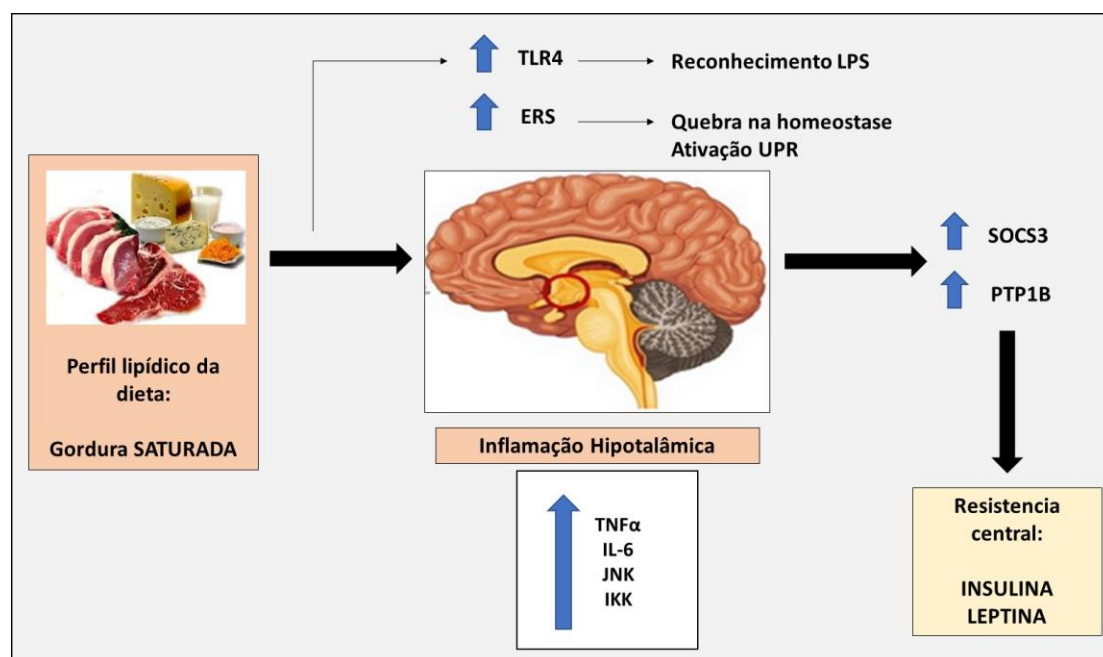


Figura 8. Inflamação hipotalâmica na obesidade. A regularidade da dieta hiperlipídica tem sido apontada como um dos principais fatores responsáveis por aumentar centralmente a expressão de TLR4, que acarreta o reconhecimento dos LPS e, aumento do ERS que quebra a homeostase das células centrais e ativa o sistema UPR. Esses eventos desencadeiam a resposta inflamatória local observada pelo aumento na expressão local de TNF α , IL-6, JNK e IKK. Mecanismos apontados como indutores da resistência à ação da leptina e insulina são relatados via indução de proteínas como a SOCS-3 e a PTP1B, que funcionam como inibidores fisiológicos da sinalização por esses hormônios. TLR4: Toll-like receptor 4; LPS: Lipopolissacarídeos; TNF α : Fator de necrose tumoral; IL-6: Interleucina 6; JNK: Quinase c-Jun N-terminal; IKK: Quinase do inibidor do NF- κ B; ERS: Estresse de retículo endoplasmático; SOCS-3: Proteína supressora da sinalização de citocinas 3; PTP1B: Proteína tirosina fosfatase 1B.

Em humanos, a análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) e as técnicas como a ressonância magnética funcional (RMf) e a tomografia por emissão de pósitrons (PET) são utilizadas para verificar alterações dinâmicas no funcionamento de tecidos cerebrais. As evidências obtidas no líquido cefalorraquidiano de indivíduos com obesidade sugerem que alterações semelhantes podem estar presentes também em seres humanos (Thaler et al., 2012; van de Sande-Lee et al., 2011). No entanto, estudos relacionados à gênese da obesidade e inflamação hipotalâmica geralmente

são desenvolvidos em animais por controlarem a indução à obesidade por dietas hiperlipídicas, o que seria inviável em humanos.

Além do quadro inflamatório central e periférico, desencadeador da RI com posterior impacto no desenvolvimento do DM2 e o fator chave no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, o acúmulo de gordura, principalmente visceral aumenta a quantidade de ácidos graxos livres (AGLs) no sangue. Isso ocorre pelo fato dos adipócitos se localizarem em áreas de alta atividade lipolítica, aumentando a quantidade desse nutriente na circulação portal e hepática com consequente elevação da produção hepática de glicose e de triglicérides séricos. Assim, a capacidade de síntese de lipoproteínas no fígado é excedida desencadeando acúmulo de gordura nos hepatócitos, caracterizado como esteatose hepática não alcoólica (EHNA) (Dâmaso et al., 2009).

Estudos prévios do nosso grupo mostraram que a EHNA aumenta o risco de desenvolvimento de fatores de risco cardiovasculares, fatores pró-inflamatórios, pode influenciar o conteúdo mineral ósseo e o processo de RI, sendo considerada um importante componente da SM (Sanches et al., 2014; Campos et al., 2012). Neste contexto, estas e outras muitas comorbidades podem se associar à obesidade tornando-a extremamente complexa e alimentando um ciclo vicioso que age em prol do agravamento do quadro em geral e diminuindo respostas aos tratamentos.

2.6 Plasticidade do tecido adiposo e termogênese

Em mamíferos, os adipócitos podem ser classificados em: adipócitos brancos (tecido adiposo branco - TAB), adipócitos marrons (tecido adiposo marrom - TAM), que possuem funções opostas no metabolismo (Giralt, Villarroya, 2013) e adipócitos *pink*, encontrados na glândula mamária durante a gravidez e lactação, necessários para a produção e secreção de leite (Giordano et al., 2014). O TAB tem a capacidade de armazenar energia sob a forma de triacilglicerol e liberar energia sob a forma de AGLs e glicerol, além de secretar múltiplos peptídeos bioativos, que não influenciam apenas a função adipocitária autócrina e parácrina, mas várias vias metabólicas por meio da circulação sanguínea (Giralt, Villarroya, 2013; Trayhurn, Wood, 2004).

Desde 1970, o TAM tem sido cada vez mais reconhecido pela capacidade de dissipar energia na forma de calor por oxidação de glicose e lipídios e, como o principal sítio de termogênese sem tremores em mamíferos. Os processos

termogênicos induzidos em TAM são regulados principalmente pelo sistema nervoso simpático (SNS) para adequar a temperatura do corpo de mamíferos quando são expostas a temperaturas abaixo da neutralidade, e ocorrem através da proteína desacopladora 1 (UCP-1) presente nas mitocôndrias e específica deste adipócito, que desacopla a cadeia respiratória (Nuutila, 2013; Lo, Sun, 2013).

Por muito tempo acreditava-se que o TAM em humanos estava presente somente em recém-nascidos para controle da temperatura corporal, mas atualmente não há dúvida de que este tecido existe e tem influência termogênica em adultos humanos. Sabe-se que suas potenciais aplicações clínicas englobam além da termogênese pelo frio a estimulação da taxa metabólica basal, aumento de captação de glicose e lipídios sanguíneos retardando o desenvolvimento de RI, melhora do metabolismo do colesterol e associa-se positivamente à densidade mineral óssea (Lee et al, 2014).

Recentemente outro tipo de células adiposas tem sido encontrado no TAB de ratos e humanos, a célula bege. Estas células parecem ser o resultado da transdiferenciação de adipócitos brancos em marrom, caracterizando um processo de escurecimento das células de gordura chamado de *browning*. O processo de transdiferenciação ocorre quando uma célula adulta de um tecido se torna outra célula adulta de outro tecido. As células bege são resultado desse processo ocorrente entre células adultas do tecido adiposo e parecem compartilhar características de adipócitos brancos e marrons, possuindo altos números mitocôndrias e expressando UCP-1 (Sanchez-Delgado et al., 2015; Jumabay, Bostrom, 2015; Lo, Sun, 2013; Jeremic, Chaturvedi & Tyagi, 2017).

O desenvolvimento destas células acontece quando a termogênese no TAB é aumentada de forma acentuada em resposta a exposições crônicas ao frio ou estimulação β -adrenérgica prolongada, como no exercício físico. Assim, diferentes formas de ativação do SNS semelhantes ao frio, como alimentação e exercício físico surgem como estratégias moduladoras da transdiferenciação adipocitária (Giralt, Villarroya, 2013; Fisher et al., 2012). Nos adipócitos marrons maduros, a ativação do SNS acarreta liberação de noradrenalina ligantes a receptores β -adrenérgicos acoplados a proteína G que ativam a adenilato ciclase, contribuindo para ativação de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC), proteína quinase A e proteínas cinases ativadas por mitogênio P38 (p38MAPK). Posto isso, enzimas lipolíticas são ativadas

aumentando a quantidade de AGLs e estimulando a UCP-1 (Sanchez-Delgado et al., 2015).

Descobertas recentes têm mostrado que novos ativadores do fenômeno *browning* atuam de forma independente a estimulação do SNS, tais como peptídeos cardíacos natriuréticos, irisina, IL-6, ácido β -aminoisobutírico (BAIBA), e fator de crescimento de fibroblastos 21 (FGF-21) (Sanchez-Delgado et al., 2015).

Os peptídeos natriuréticos (PN) (peptídeo natriurético atrial – ANP; peptídeo natriurético ventricular tipo B – BNP; e peptídeo natriurético tipo C), são hormônios produzidos pelo coração e suas ações tradicionalmente conhecidas são natriurese, diurese e vasodilatação, que juntos servem para neutralizar o estresse da parede cardíaca excessivo (Engeli et al., 2012; Bordicchia et al., 2012; Song, Wang, Wu, 2015). Embora classicamente considerados como hormônios cardiovasculares, há duas décadas receptores PN foram encontrados em tecido adiposo ratos e humanos (Sarzani et al., 1996). Posteriormente, o ANP foi relacionado ao aumento da atividade lipolítica em adipócitos de adultos e como indutor do *browning* (Song, Wang, Wu, 2015). Somado a isso, estudos mostraram relação inversa entre os níveis de PN circulantes e o IMC, aumento da PA e uma relação diretamente proporcional ao aumento da oxidação da gordura e perda de peso (Bordicchia et al., 2012; Santhekadur et al., 2017).

Por outro lado, outros ativadores agem via produção de peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC1 α) que está aumentado em situações como exercício físico, por responderem a biossíntese mitocondrial auxiliando no fornecimento de metabolismo da energia (Figura 9) (Lee et al., 2014; Sanchez-Delgado et al., 2015).

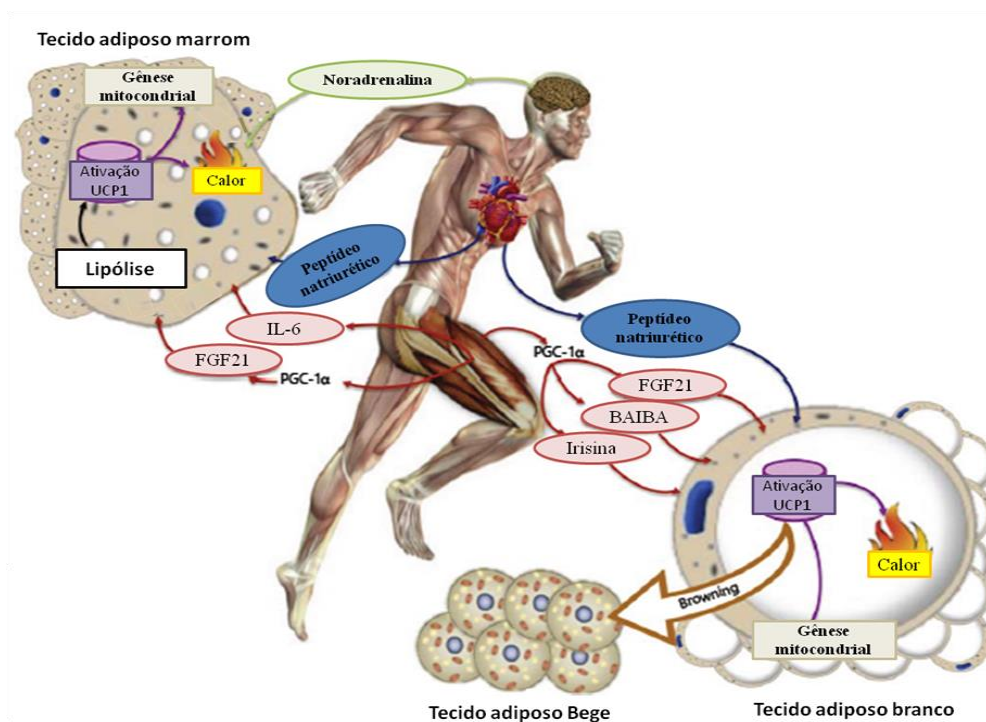


Figura 9. Potenciais mecanismos em resposta ao exercício físico no processo de *browning* - Adaptado de Sanchez-Delgado e colaboradores (2015).

Recentemente como destaque em pesquisas científicas, o FGF-21 está entre os ativadores que pode estimular a termogênese no TAB e no TAM, dando origem às células bege através da ativação da UCP1, e consequentemente da biogênese mitocondrial. É secretado predominantemente pelo fígado, sendo que o tecido adiposo, músculo esquelético, pâncreas, rins e coração expressam FGF-21 em menor quantidade. Condições que induzem estresse físico humanos como exercício físico, lactação, obesidade, resistência à insulina e ao diabetes tipo II influenciam os níveis séricos e a ação do FGF-21 (Cuevas-Ramos, Aguilar-Salinas, 2016; Kim, Lee, 2015; Fisher et al., 2012).

O FGF-21 possui diversas ações terapêuticas além de estimulador da termogênese. Foi descrito primeiramente como captador de glicose, indutor de gliconeogênese hepática e de oxidação de gorduras e, com ações de melhora na sensibilidade a insulina. No hipotálamo o FGF-21 age estimulando a liberação de corticosterona, que induz a produção de adiponectina pelas células adiposas, atuando na profilaxia de doenças cardiovasculares (Kharitonov, et al., 2005; Huang et al., 2017). Indivíduos em condições de obesidade e suas comorbidades apresentam níveis sanguíneos elevados de FGF-21, mas parecem desenvolver resistência à ação desse hormônio, prejudicando sua ação benéfica (Cuevas-Ramos, Aguilar-Salinas, 2016).

Em contrapartida, o exercício físico tem sido visto como uma das principais terapias para aumento e recuperação da sensibilidade ao FGF-21 (Sanchez-Delgado et al., 2015; Cuevas-Ramos, Aguilar-Salinas, 2016).

A modulação dietética também parece influenciar a plasticidade dos adipócitos com hipóteses baseadas em processos de estimulação do SNS, como dietas de jejum prolongado e dietas proteicas que aumentam a liberação de catecolaminas. Esta linha de pensamento pode ser defendida por estudos experimentais que mostraram não haver controle da temperatura corporal em exposição ao frio quando animais eram nocaute para genes que estimulavam de SNS e produção de catecolaminas (Landsberg et al., 2006). Apesar de ainda existirem poucas evidências que abordam as possíveis terapias para aumento de vias de estimulação da transdiferenciação adipocitária, a existência de TAM e adipócitos bege em humanos podem apresentar vias possíveis para resolver os problemas crescentes de desordens metabólicas e de obesidade (Kim, Lee., 2015; Lee et al., 2014; Lo, Sun, 2013).

Recentemente, Pryzak e colaboradores (2015) mostraram em uma revisão de literatura que os achados relacionando o TAM e *browning* em adolescentes ainda são escassos e de caráter transversal. Alguns estudos mostraram relação direta entre quantidade de TAM e massa muscular nessa população, e que os altos níveis de FGF-21 em adolescentes com obesidade se correlacionam positivamente com o teor de gordura hepática e gordura visceral. Assim, o estudo mostrou haver a necessidade de maior investigação tanto em nível diagnóstico quanto em intervenções voltadas a verificação do comportamento de marcadores termogênese e seus efeitos terapêuticos em diversas situações, dentre elas o tratamento da obesidade.

2.7 Estudos interdisciplinares envolvendo marcadores do balanço energético e aspectos inflamatórios em adolescentes com obesidade

Estudos realizados em diferentes partes do mundo, têm demonstrado, que através da análise da multifatorialidade da obesidade e da diversidade de comorbidades associadas, o tratamento interdisciplinar com olhares em diversos âmbitos da doença tem se mostrado eficaz para o tratamento e manutenção a longo prazo dos resultados alcançados (Dâmaso et al., 2014; Bischoff et al., 2012; Maclean et al., 2011; Dâmaso et al., 2009). Para adolescentes com obesidade, Dâmaso e colaboradores (2013) observaram que após ano de terapia clínica interdisciplinar (Figura 10) os voluntários

apresentaram controle de inúmeros fatores clínicos relacionados tanto ao balanço energético quanto a processos inflamatórios associados, reduzindo a prevalência de SM, EHNA, asma e risco de doenças cardiovasculares.

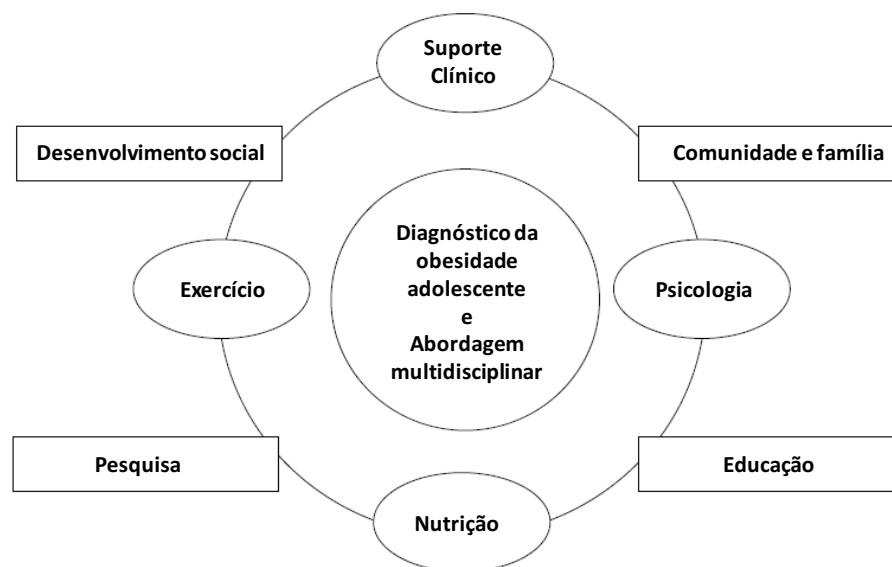


Figura 10. Modelo de intervenção interdisciplinar - Adaptado de Dâmaso e colaboradores (2013).

Poucos estudos investigaram a variação fatores relacionados à modulação do balanço energético associado a terapias interdisciplinares para perda de peso em adolescentes com obesidade. Recentemente, Schwartz e colaboradores (2017) mostraram em uma revisão sistemática da literatura que intervenções clínicas interdisciplinares podem modular a ingestão alimentar, destacando a realização sistemática de exercícios físicos como papel importante no processo de modulação de diferentes marcadores do balanço energético.

A revisão sistemática apontou ainda que os principais protocolos escolhidos por estudos interdisciplinares são o treinamento concorrente (baseado nas diretrizes do American College of Sports Medicine (ACMS): 30 minutos de treinamento aeróbico mais 30 minutos de treinamento resistido por sessão), sessões de caminhada ou corrida, sessões de ciclismo indoor, e exercícios combinados com aulas de academias. Classicamente, os exercícios físicos são apontados como fatores importantes para aumentar o gasto energético, porém efeitos inibitórios do comportamento alimentar e da fome, além de alterações favoráveis em hormônios intestinais influenciadores do balanço energético, vem sendo observados em protocolos envolvendo exercícios físicos.

Prado e colaboradores (2015) demonstraram que 12 semanas de exercícios aeróbios realizados na intensidade do limiar ventilatório 1 (LV1), considerado de alta intensidade, juntamente com suporte nutricional e psicológico, aumentam os níveis de PYY e podem levar à diminuição da ingestão de alimentos em adolescentes com obesidade. No entanto, as alterações encontradas nos níveis séricos de PYY foram exclusivas do treinamento do LV1, enquanto as concentrações séricas de leptina, grelina e insulina responderam às intensidades moderadas e altas de treinamento. Complementando os dados, previamente Thivel e colaboradores (2012) demonstraram que uma única sessão de exercício físico a 75% consumo máximo de oxigênio foi capaz de promover redução da ingestão alimentar durante 24 horas para adolescentes com obesidade, o que reforça a hipótese de os exercícios físicos contribuírem além do gasto energético para o emagrecimento.

Diante da dificuldade de se estudar as variações e respostas locais hipotalâmicas em humanos, alguns estudos buscaram verificar as concentrações séricas de hormônios anorexígenos (α -MSH) e orexígenos (NPY e AgRP) de ações centrais que envolvem o apetite. Carnier e colaboradores (2013) demonstraram que diferentes tipos de exercícios físicos podem ser responsáveis por modular de forma diferenciada o balanço energético após 1 ano de terapia interdisciplinar. Independente da ingestão alimentar, o exercício aeróbio foi capaz de aumentar de forma significativa os níveis de α -MSH, possivelmente estimulando vias anorexígenas do controle do balanço energético. Oyama e colaboradores (2010) apontaram que a magnitude da perda de peso é um fator que pode ser determinante nas respostas séricas neuroendócrinas, demonstrando que em adolescentes com obesidade a perda de peso ≥ 14 kg foi capaz de aumentar os níveis séricos de α -MSH, diminuir NPY e modular a ingestão alimentar comparados a baixa diminuição do peso ($\leq 2,5$ kg) também em exercícios aeróbios.

Além dos exercícios físicos, tem sido demonstrado que a ingestão de nutrientes específicos pode influenciar alguns fatores relacionais ao balanço energético. O perfil lipídico da dieta consumida, principalmente ácidos graxos saturados têm sido relacionados a alterações na inflamação hipotalâmica e a diminuição de fatores anorexígenos, como expressão de neurônios da CART, em pesquisas com roedores (Milanski et al., 2009; Tian et al., 2004).

Em humanos, estudos envolvendo o consumo de gorduras saturadas são predominantemente voltados a avaliação do perfil inflamatório. Em adolescentes com

obesidade, Masquio e colaboradores (2014) avaliaram a ingestão de diferentes quantidades de gordura saturada e classificaram tercís do consumo em alta, moderada e baixa redução pós terapia para perda de peso. Os níveis moderados e altos de redução do consumo de gorduras saturadas foram relacionados com diminuição nas concentrações de insulina, da razão pró inflamatória leptina/adiponectina, da espessura íntima média da carótida (EIMc) e com o aumento nas concentrações adiponectina e na razão adiponectina/leptina, biomarcador anti-inflamatório relacionado com redução do risco cardiovascular em adolescentes com obesidade. Além disso, a relação adiponectina/leptina foi considerada preditora da EIMc.

Abordando a mesma metodologia clínica interdisciplinar, alguns estudos apontaram resultados promissores ainda mais abrangentes para o combate da inflamação crônica de baixo grau (Sanches et al., 2014a; Sanches et al., 2014b; Campos et al., 2013; Masquio et al., 2013; Corgosinho et al., 2012). Sanches e colaboradores (2014a) mostraram que a relação existente entre a EHNA e o aumento de fatores de risco para doenças cardiovasculares e de fatores pró-inflamatórios pode ser melhorada com a terapia, por reduzir a EIMc e pela diminuição na expressão de citocinas pró-inflamatórias. Em posterior estudo, Sanches e colaboradores (2014b) mostraram que o estado de hiperleptinemia pode prejudicar a atenuação da inflamação em adolescentes com obesidade submetidos a terapia interdisciplinar, impedindo o aumento da concentração de adiponectina, o que está diretamente envolvido na proteção vascular.

Quando analisadas as respostas a terapia interdisciplinar de longo prazo com e sem comorbidades associadas foi observado que adolescentes com obesidade que apresentavam SM responderam com menos eficiência ao tratamento em relação aos perfis lipídicos e razão leptina/adiponectina (Masquio et al., 2015; Corgosinho et al., 2012). De Piano e colaboradores (2010) avaliaram a resposta de neuropeptídeos séricos orexígenos, NPY e AgRP, em adolescentes com obesidade com e sem EHNA. Apesar do consumo total de energia e percentual de ingestão de macronutrientes reduzirem nos dois grupos pós intervenção de 1 ano, foram encontradas correlações positivas entre os níveis séricos de AgRP e gordura visceral para os dois grupos e correlação negativa entre NPY/AgRP e adiponectinemia apenas em adolescentes com EHNA. Os autores sugerem que a presença EHNA gera um perfil inflamatório que pode influenciar a regulação neuroendócrina do balanço energético, apontando um comprometimento adicional a ser considerado na terapia para perda de peso.

Campos e colaboradores (2013) analisaram o impacto do tratamento interdisciplinar sobre a densidade mineral óssea e mostraram que a gordura visceral, os níveis de grelina e razão leptina/adiponectina aumentados atuam como preditores negativos a saúde óssea. Para a mesma população, Carnier e colaboradores (2010) avaliaram o comportamento de neuropeptídeos séricos na presença de transtornos alimentares. Após a terapia de longo prazo para perda de peso, além da redução da massa corporal e melhora dos sintomas dos transtornos alimentares foram encontradas diminuição nas concentrações dos fatores séricos orexígenos, sugerindo que esses resultados representam um perfil positivo adquirido pós terapia pelo qual os pacientes podem normalizar comportamentos relacionados a distúrbios alimentares, bem como as ações dos hormônios envolvidos no equilíbrio energético, e assim, promover o controle da obesidade.

Desse modo, é notório que o balanço energético é um somatório de aspectos fisiológicos e comportamentais (Ex.: Ingestão alimentar, tipo e nível de atividade física, presença de comorbidades, entre outros), que juntos podem explicar quais são os determinantes do sucesso durante e pós terapia para perda de peso. Apesar do crescente aumento da prevalência de obesidade em populações pediátricas, é comum que a apresentação dos desfechos dos estudos gire em torno da composição corporal, fatores de risco cardiovasculares ou aptidão física, tornando escassos estudos que verifiquem os impactos dos tratamentos em variáveis que envolvem a ingestão e gasto energético para esse público. Nessa perspectiva, destaca-se a importância de novos estudos buscando melhor entender os mecanismos relacionados aos fatores orexígenos e anorexígenos que impactem no consumo e gasto energético e inflamação, visando o controle da obesidade na infância e na adolescência.

Justificativa

3. JUSTIFICATIVA

A regulação do balanço energético engloba o entendimento de vias orexígenas e anorexígenas que são moduladas predominantemente por neuropeptídeos e aspectos inflamatórios, ambos sinalizados periféricamente e de forma central. O anteriormente descrito, reforça a importância de mais estudos que buscam investigar prováveis mecanismos na regulação do balanço energético em adolescentes com obesidade, o que poderia contribuir para o desenvolvimento de estratégias clínicas mais efetivas para o combate desta doença e de suas comorbidades.

O presente trabalho contribui para o progresso da literatura científica visto que engloba estudos da obesidade em diversas ramificações da sua etiologia. Os protocolos para emagrecimento a longo prazo com humanos apresentam diversas limitações, e são escassos na literatura, principalmente por diferentes faixas etárias apresentarem características fisiológicas e comportamentais diferenciadas, não sendo possível na maioria dos casos, a extrapolação de dados para a comparação entre crianças, adolescentes, adultos, idosos, gestantes, entre outros. Com o desenvolvimento do protocolo proposto, algumas lacunas científicas em relação aos diversos fatores envolvidos no controle do balanço energético de adolescentes com obesidade podem ser mais bem entendidas.

Além do comportamento fisiológico de vias orexígenas e anorexígenas não estarem bem estabelecidos quanto à sinergia dos respectivos neuropeptídeos, dependência da sinalização da leptina, influência dos aspectos inflamatórios e relação com a termogênese, outras situações podem ser influenciadoras das respostas ao tratamento, como a relação dos níveis basais dos neuropeptídeos com a modulação final do balanço energético pós diminuição da massa corporal e o percentual de redução de peso corporal nos tratamentos da obesidade. Além disso, o melhor entendimento dos aspectos fisiológicos pode ser contrastado com variáveis aplicáveis na prática clínica como ingestão alimentar e nível de atividade física, visando contribuir para mais um contexto da etiologia da obesidade.

Objetivos

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o papel dos neuropeptídeos anorexígenos e orexígenos e adipocinas na regulação do balanço energético em adolescentes com obesidade submetidos a terapia interdisciplinar para o emagrecimento em longo prazo.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- **Artigo 1:** Avaliar o papel do neuropeptídeo α -MSH na adiposidade corporal e respostas de neuropeptídeos orexígenos/anorexígenos em adolescentes com obesidade submetidos a terapia interdisciplinar de longo prazo.
- **Artigo 2:** Investigar a influência das variáveis do balanço energético na redução de gordura corporal e o impacto da magnitude da perda de peso no comportamento de vias orexígenas e anorexígenas em adolescentes com obesidade submetidos a terapia interdisciplinar de longo prazo.
- **Artigo 3:** Verificar a associação entre o Índice Inflamatório da Dieta e a modulação dos fatores anorexígenos e orexígenos do balanço energético em adolescentes com obesidade submetidos a terapia interdisciplinar de longo prazo.

Materiais e Métodos

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 População de estudo

A população foi composta de adolescentes com obesidade, do sexo feminino e masculino, pós-púberes, classificados de acordo com o IMC por gênero e idade para obesidade.

Critérios de inclusão - Voluntários com faixa etária de 14 a 19 anos, para caracterização da amostra como sendo de adolescentes, IMC acima do percentil 97 da curva proposta pela OMS (de Onis et al., 2007) e classificação 5 do estadiamento puberal (Tanner e Whitehouse, 1976).

Critérios de não inclusão - Cardiopatias, deformidades musculoesqueléticas, doenças relacionadas ao sistema imune, doença genética, metabólica ou endócrina. Presença de consumo crônico de álcool e tabaco, além daqueles que estejam fazendo uso de medicação e/ou suplementos alimentares que alterem o metabolismo nos seis meses antecedentes ao início do estudo.

Para o cálculo amostral foi utilizado o programa de análises G*Power 3.0.10 sendo adotado o teste t (diferenças entre duas médias dependentes). Consideramos um nível de significância de 5%, um poder de teste de 80% e o tamanho do efeito de 0.25. Tamanho amostral obtido de 101 voluntários. Considerando uma perda amostral de aproximadamente 20% a amostra será constituída por 121 voluntários.

Importante destacarmos que na presente tese, os resultados encontrados serão apresentados e discutidos na forma de três artigos científicos. Para isso, foram realizadas análises estatísticas distintas com amostras selecionadas de acordo com os objetivos propostos em cada investigação de estudo. Sendo assim, abaixo segue a descrição de cada amostra investigada por artigo confeccionado:

5.1.1 População do Artigo 1

A população do artigo 1 foi composta por 110 adolescentes de ambos os gêneros, com idades entre 14 e 19 anos, IMC acima do percentil 97 da curva proposta pela OMS (de Onis et al., 2007) e classificação 5 do estadiamento puberal (Tanner e

Whitehouse, 1976). Os adolescentes foram analisados em grupos de acordo com o tercil dos níveis séricos iniciais de α -MSH:

- **Tercil 1** – Grupo com baixos níveis séricos iniciais de α -MSH ($< 0,75$ ng/ml): 37 adolescentes.
- **Tercil 2** – Grupo com médios níveis séricos de α -MSH ($\geq 0,75$ to $\leq 1,57$ ng/ml): 40 adolescentes.
- **Tercil 3** – Grupo com altos níveis séricos de α -MSH ($> 1,57$ ng/ml): 36 adolescentes.

5.1.2 População do Artigo 2

A população do artigo 2 foi composta por 108 adolescentes de ambos os gêneros, com idades entre 14 e 19 anos, IMC acima do percentil 97 da curva proposta pela OMS (de Onis et al., 2007) e classificação 5 do estadiamento puberal (Tanner e Whitehouse, 1976). Os adolescentes foram analisados em grupos de acordo com o percentual de perda de peso ao final do tratamento:

- **Grupo baixa perda de peso:** 68 adolescentes com perda de peso $< 10\%$ referente ao peso inicial do tratamento.
- **Grupo alta perda de peso:** 40 adolescentes com perda de peso $\geq 10\%$ referente ao peso inicial do tratamento.

5.1.3 População do Artigo 3

A população do artigo 3 foi composta por 50 adolescentes de ambos os gêneros, com idades entre 14 e 19 anos, IMC acima do percentil 97 da curva proposta pela OMS (de Onis et al., 2007) e classificação 5 do estadiamento puberal (Tanner e Whitehouse, 1976). Os adolescentes foram analisados em grupos de acordo com o aumento e diminuição do Índice Inflamatório da Dieta pós terapia interdisciplinar:

- **Aumento do Índice Inflamatório da Dieta:** 20 adolescentes.
- **Diminuição do Índice Inflamatório da Dieta:** 30 adolescentes.

5.2 Desenho experimental

A divulgação do estudo foi realizada pela assessoria de imprensa da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Após contato inicial telefônico, os voluntários foram selecionados para entrevista inicial/anamnese presencial para coleta de informações clínicas com intuito de detectar os critérios de inclusão, e aspectos psicológicos, nutricionais e de estilo de vida. Após a primeira etapa de seleção, os voluntários foram encaminhados para avaliação cardiológica e realização do exame de eletrocardiograma de repouso e exercício a fim de serem liberados para a prática de exercícios físicos.

O estudo foi conduzido no Centro de Estudos em Psicobiologia e Exercício (CEPE) pela equipe interdisciplinar do Grupo de Estudos da Obesidade (GEO) da UNIFESP, de acordo com os preceitos descritos na declaração de Helsinki da Associação Médica Mundial, e respeitou todos os princípios descritos nas Diretrizes Éticas Internacionais para a Pesquisa Envolvendo Seres Humanos. Inicialmente, o projeto foi submetido ao comitê de ética para aprovação (#0135/04) (ANEXO 1) e registrado no Clinical Trials (NCT01358773).

Todos os participantes e responsáveis legais foram esclarecidos sobre os objetivos e procedimentos do projeto e aos que concordaram, foi solicitado que assinassem um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para pais e participantes (ANEXO 2) e os que não obtinham maioridade etária assinaram o Termo de Assentimento (ANEXO 3).

A intervenção possuiu caráter longitudinal e interdisciplinar. Obteve duração de 1 ano com metas de redução de peso corporal entre 5 e 10%. Nos encontros iniciais e finais foram realizadas coletas sanguíneas para análises bioquímicas e marcadores do balanço energético e análise da composição corporal e antropometria. Consultas individuais foram realizadas mensalmente com endocrinologista. Semanalmente, os voluntários realizaram encontros em grupo uma vez na semana com nutricionistas, psicóloga, fisioterapeutas e, três vezes na semana com profissional de educação física para realização do treinamento físico (Figura 11).

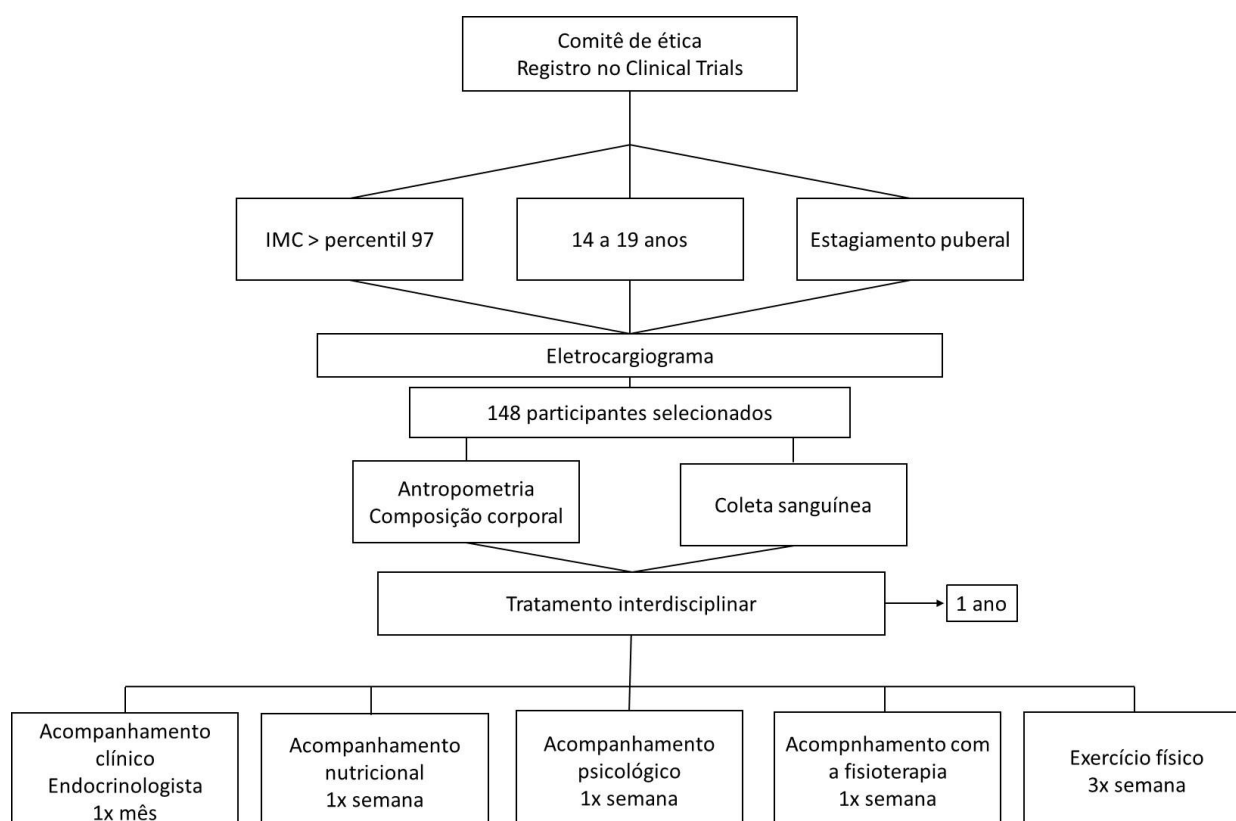


Figura 11. Desenho experimental geral

5.3 Métodos de avaliação

A seguir serão descritos todos os procedimentos de avaliação aos quais os adolescentes foram submetidos. Todos os voluntários realizaram os mesmos exames, nas mesmas condições, sempre que possível pelo mesmo avaliador e na mesma hora do dia, para evitar qualquer tipo de influência circadiana sobre os resultados.

5.3.1 Avaliação clínica

Os voluntários foram submetidos a uma avaliação inicial para inclusão no estudo, para coleta de informações sócio demográficas e de saúde, fornecidas pelos participantes ou responsáveis, que incluem questões referentes à: peso ao nascimento, tempo de amamentação, raça, presença de doenças respiratórias na infância e de rinite ou sinusite, história familiar de tabagismo, asma e obesidade, nível socioeconômico e estágio puberal (Tanner, Whitehouse, 1976). A anamnese completa (ANEXO 4),

análise de exames e pressão arterial (PA) foram realizadas por um médico endocrinologista.

5.3.2 Antropometria e avaliação da composição corporal

Foram realizadas medidas de massa corporal e estatura (Lohman, 1988), utilizando uma balança antropométrica mecânica Filizola®, com capacidade para 150 kg e sensibilidade de 100g, e um estadiômetro da marca Sanny®, com escala de precisão de 0,1cm. Posteriormente o IMC foi calculado, dividindo-se a massa corporal (Kg) pelo quadrado da altura (m). A medida de circunferências da cintura foi aferida no ponto médio entre o último arco costal e a crista ilíaca.

A composição corporal foi aferida pelo método de pletismografia por deslocamento de ar (Air displacement plethysmography, BOD POD® body composition; Life Measurement Instruments, Corcord, CA/EUA). O método utiliza a razão inversa entre pressão (p) e volume (v) baseado na Lei de Boyle ($P_1V_1=P_2V_2$) para determinar o volume corporal. Todas as avaliações foram realizadas seguindo o manual do equipamento e demais procedimentos estabelecidos na literatura (Fields et al., 2005).

5.3.3 Avaliação da capacidade cardiorrespiratória e nível de atividade física

A capacidade cardiorrespiratória foi verificada pelo teste de cargas incrementais ergoespiométrico em que foram determinados o consumo máximo de oxigênio ($VO_{2máx}$), limiar ventilatório 1 e 2 (LV1 e LV2), frequência cardíaca máxima ($FC_{máx}$) e frequência cardíaca no LV 1 e 2. As determinações do $VO_{2máx}$ e LV 1 e 2 foram realizadas de acordo com os critérios descritos por Wasserman et al. (1987). Os testes foram realizados em ambiente amplo e bem iluminado, com temperatura controlada entre 24 e 26 graus. Os testes foram realizados para determinação das cargas de treinamento estabelecida entre os LV 1 e 2.

O teste foi realizado em esteira rolante (Lifefitness™ – Belmint Avenue; Franklin Park, IL, USA) por meio de um protocolo fixo com velocidade inicial de quatro km/hora durante três minutos e incrementos de velocidade de 1 km/hora a cada minuto até a exaustão do voluntário e detecção dos critérios para interrupção. As variáveis respiratórias foram aferidas por meio de mensuração de trocas gasosas

respiratórias utilizando-se uma máscara facial para captação dos gases (SensorMedics-Vmáx 29 Series – Metabolic measurement cart, Yorba Linda, CA, USA). A cada estágio e ao final do teste a frequência cardíaca foi monitorada por meio de um frequencímetro (Polar, modelo Advange NV, EUA). Após seis meses a avaliação cardiorrespiratória foi repetida para ajustes das cargas de treinamento. O nível de atividade física foi monitorado na avaliação basal pelo Questionário internacional de atividade física – versão curta (Pardini et al., 2001).

5.3.4 Avaliação e prescrição dietética

A avaliação do consumo alimentar foi realizada por diário alimentar de três dias não consecutivos, avaliando dois dias da semana e um dia do final de semana. Antes de preencherem os diários, os voluntários foram orientados sobre o modo correto de reportarem as informações. As porções foram registradas em medidas caseiras e os dados alimentares obtidos foram registrados e analisados por meio do software DietSmart® para a análise do consumo alimentar.

Foram mensurados a quantidade calórica total ingerida, quantidades de macronutrientes e micronutrientes, carga glicêmica e índice glicêmico. Foram calculadas e consideradas para as análises as médias de ingestão desses nutrientes considerando os três dias de registro. Posterior ao cálculo das quantidades alimentares, foi realizada a análise do Índice Inflamatório da Dieta (E-IID) (Shivappa et al., 2014) em que foram incluídos 24 nutrientes, dentre eles: carboidratos, proteínas, gorduras (gordura saturada, monoinsaturada poli-insaturada, ômega-3, ômega 6), fibras, colesterol, niacina, tiamina, riboflavina, vitaminas: A, B6, B12, C, D e E, Ferro, Magnésio, Zinco, Selênio, Ácido Fólico e betacaroteno. O preenchimento do diário alimentar foi realizado no momento basal e pós intervenção.

5.3.5 Avaliação Bioquímica

As coletas sanguíneas foram realizadas por um profissional da saúde, por meio de punção periférica da veia do antebraço, após jejum noturno de 12 horas. As amostras foram centrifugadas e o soro e o plasma foram separados. As alíquotas

foram estocadas à -80°C para posterior dosagem bioquímica de hormônios e neuropeptídeos relacionados ao balanço energético.

Todas as análises bioquímicas foram realizadas pelo laboratório da Associação de Incentivo a Pesquisa (AFIP) e pela parceria estabelecida junto ao laboratório de Fisiologia da Nutrição da Universidade Federal de São Paulo no momento basal e pós intervenção.

Os marcadores metabólicos e hormonais determinados foram a glicemia, feita por métodos espectrofotométricos (UV-Visível, modelo UV-1601PC, Shimadzu Corp, Kioto, Japão), colesterol total e frações (HDL-c, LDL-c, VLDL-c e TG) pelo método comparativo calorimétrico (VITROS CHOL, Ortho-Clinical Diagnostics, Inc Amesham, Inglaterra) e, dosagens hormonais de insulina plasmática avaliada por meio de ensaio enzimático (ELISA), utilizando kits específicos para determinação.

Somado a isso, foram analisadas as concentrações séricas de Leptina, AgRP, NPY, α -MSH, marcadores do balanço energético, avaliados por meio de ELISA, utilizando kits comerciais (R&D System – Minneapolis, USA) seguindo as recomendações do fabricante. Os valores de utilizados para leptina foram: 1 a 20 ng/mL para meninos e 4,9 a 24 ng/mL para meninas (Gutin et al., 1999).

5.4 Terapia Interdisciplinar

A intervenção interdisciplinar foi realizada por profissionais das áreas de nutrição, educação física, psicologia, fisioterapia e endocrinologia. A prática interdisciplinar foi caracterizada por reuniões mensais para a discussão sobre a evolução dos pacientes e elaboração das estratégias motivacionais.

5.4.1 Acompanhamento Clínico Endocrinológico

O acompanhamento endocrinológico foi realizado mensalmente, com avaliações sobre o quadro de obesidade do voluntário e evolução das comorbidades. Na consulta inicial foi aplicada a anamnese, verificação da história clínica, determinação dos critérios de inclusão do estudo e estabelecimento de metas mensais de redução do peso corporal.

Nas consultas mensais foram realizadas avaliações clínicas de PA, acantose nigricans, ausculta pulmonar e cardíaca, palpação abdominal e aferição da massa corporal.

5.4.2 Intervenção Nutricional

A intervenção nutricional foi realizada de duas maneiras: individual (mensal) e em grupo (semanal); ambas conduzidas por nutricionistas. As consultas individuais tiveram o objetivo de fornecer um plano alimentar baseado nas características individuais de rotina e hábitos alimentares de cada voluntário, calculado respeitando fatores como idade, gênero e nível de atividade física (NCR, 2001). Segundo as *Dietary References Intakes (DRI's)*, a distribuição de macronutrientes seguiu a seguinte recomendação considerando o valor energético total da prescrição alimentar: 50 a 60% de carboidratos, 10 a 15% de proteínas e até 30% de lipídeos.

As intervenções em grupo foram realizadas com o objetivo de promover hábitos alimentares saudáveis abordando temas importantes para o tratamento da obesidade de forma prática e lúdica. Os principais temas trabalhados foram: princípios de uma alimentação saudável, montagem do prato, pesos e medidas caseiras, fast foods, opções de lanches saudáveis, comportamento alimentar em festas e datas comemorativas, alimentos diet e light, alimentos funcionais, dietas da moda, tipos de óleos e gorduras, mitos e verdades sobre alimentação e rotulagem nutricional (Phillipi et al., 1999). Nenhum tipo de fármaco ou suplementos alimentares foram prescritos e os pacientes foram encorajados a não fazer o uso dos mesmos.

5.4.3 Intervenção psicológica

A intervenção psicológica foi realizada semanalmente e em grupo com atividades dinâmicas e teóricas aplicadas pela psicóloga. O objetivo foi trabalhar temas como alterações emocionais e comportamentais, mudanças no estilo de vida, emoções e alimentos, ansiedade, depressão, autoestima, imagem corporal, preconceito, transtornos alimentares, questões familiares e técnicas de autocontrole (de Carvalho-Ferreira et al., 2015). A intervenção psicológica individual foi realizada após a detecção de casos mais graves de transtornos alimentares, ansiedade e depressão. No entanto, a psicóloga colocou-se à disposição de todos os voluntários

caso os mesmo não se encaixassem nos casos graves mas, enxergassem a necessidade de consultas individuais.

5.4.4 Prescrição e acompanhamento do exercício físico

Para o desenvolvimento deste trabalho, o tipo de exercício físico escolhido foi o concorrente caracterizado pela realização de exercício aeróbios e treinamento de resistência na mesma sessão, realizados sob supervisão e orientação de profissionais de educação física, três vezes por semana, em dias alternados com duração de 60 minutos a cada sessão. O programa de exercícios físicos foi baseado nas recomendações do *American College of Sports Medicine* (Donnelly et al., 2009) em que dos 60 minutos da sessão, 30 foram destinados a exercícios aeróbios e 30 minutos a exercícios resistidos.

O treino aeróbio foi prescrito na intensidade de frequência cardíaca entre o LV 1 e 2 em esteira rolante ou cicloergômetro. O treinamento resistido foi realizado em equipamentos de musculação, englobando os principais grupamentos musculares: peitoral maior, quadríceps, dorsais, ísquios tibiais, tríceps sural, deltoides, bíceps, tríceps, abdômen e extensores da coluna. A familiarização com os equipamentos foi feita durante 2 semanas com três séries de 15 a 20 repetições. Após a familiarização, a carga foi ajustada e consequentemente a cada 8 semanas. O treinamento se caracterizou com volume e intensidade ondulatórios, em que essas duas variáveis foram ajustadas inversamente. Semanalmente, a cada treino o número de repetições era diminuído de 15 a 20 para 10 a 12 e por fim, 6 a 8, enquanto a carga aumentava. Independente do volume e da intensidade o número de sets era fixo em 3. Durante as séries, foi encorajado o descanso ativo com alternância de aparelhos para membros inferiores e superiores.

O ajuste de carga foi realizado semanalmente, e sempre que possível pela própria percepção do voluntário. Durante todo o treinamento, a frequência cardíaca foi monitorada. Os adolescentes foram incentivados a sempre procurar praticar exercícios aos finais de semana e nas atividades diárias, como na escola.

5.4.5 Intervenção Fisioterapêutica

As intervenções fisioterapêuticas foram realizadas em grupo com a abordagem de diversos temas focados no corpo humano, entendimento das estruturas e composição corporal, desenvolvimento de patologias, aprendizado de medidas ergonômicas para prática de exercícios físicos, atividades na escola, em casa, bem como a importância do controle do peso corporal como medida preventiva para o desenvolvimento de doenças musculoesqueléticas. Além disso, aulas práticas foram ministradas com aplicação de técnicas de reeducação postural global e intervenções de hidroterapia. Caso houvesse necessidade de atendimento fisioterapêutico por motivo de lesão, este era realizado pelo fisioterapeuta do CEPE.

5.5 Análise dos resultados

Os resultados obtidos foram avaliados através de análises estatísticas utilizando o software Statistica® versão 7.0, para Windows. Foi verificada a normalidade dos dados, sendo que os dados paramétricos foram expressos em média e desvio padrão (DP) e os dados não paramétricos foram expressos em mediana e valores mínimo e máximo, ou normalizados por zscore. Testes estatísticos específicos que buscaram responder aos objetivos dos artigos 1, 2 e 3 foram realizados e descritos especificamente nas sessões de análise estatística. Adotou-se o valor de significância de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão serão apresentados em forma de três artigos científicos sendo que a metodologia científica, numeração de figuras e tabelas e referências foram mantidas em sua configuração e numeração original de publicação e submissão.

- ARTIGO 1

Título: The long-term impact of high levels of α -MSH in energy balance among obese adolescents

Revista: Annals of Nutrition and Metabolism

Ano de publicação: 2018

Fator de Impacto: 3,051

- ARTIGO 2

Título: Adipocytokine and appetite-regulating-hormones response to weight loss in adolescents with obesity: impact of weight loss magnitude

Submetido a Revista: Nutrition

Fator de Impacto: 3,639

- ARTIGO 3

Título: The association between Dietary Inflammatory Index scores and serum concentrations of adipocytokines and hormones that affect appetite in adolescents with obesity engaged in long-term interdisciplinary therapy

Submetido a Revista: British Journal of Nutrition

Fator de Impacto: 3,302

Artigo 1

6.1 Artigo 1

The long-term impact of high levels of α -MSH in energy balance among obese adolescents

High levels of α -MSH in long-term weight loss therapy

Ana Claudia Pelissari Kravchychyn¹, Raquel Munhoz da Silveira Campos², Flavia Campos Corgosinho¹, Deborah Cristina Landi Masquio³, Sofia Emanuelle de Castro Ferreira Vicente¹, Yasmin Alaby M. Ferreira¹, Patrícia L. Silva⁴, Aline de Piano Ganen³, Lila Missae Oyama¹, Lian Tock⁵, Marco Túlio de Mello⁶, Sérgio Tufik¹, Ana Raimunda Dâmaso¹

¹Federal University of São Paulo; ²Federal University of São Carlos; ³São Camilo University Center; ⁴Federal University of Goiás; ⁵Weight Science; ⁶ Federal University of Minas Gerais.

Abstract

Background: Deregulation of orexigenic and anorexigenic pathways occurs among adolescents with obesity. Alpha-melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) is a key catabolic mediator of energy homeostasis and an important anorexigenic neuropeptide in the control of energy balance and thermogenesis. However, it was not well explored if α -MSH can modulate long-term weight loss therapy responses as dependent manner according to its concentration. We hypothesis is that high α -MSH concentration at baseline promotes better modulation of anorexigenic/orexigenic pathways in obese adolescents. **Methods:** 110 post-pubertal obese adolescents (BMI >97th percentile), were submitted to 1 year of interdisciplinary therapy (clinical, nutritional, psychological, physical exercise and physiotherapy support). Body composition and plasma levels of Alpha-MSH, NPY, MCH, AgRP were measured before and after therapy. The volunteers were grouped by Tertiles of α -MSH concentration: Low (<0.75 ng/ml), Medium (≤ 0.76 to ≥ 1.57 ng/ml) and High (>1.57 ng/ml). Significance was set as $p < 0.05$. **Results:** The treatment promoted a significant improvement in body adiposity and fat free mass for all groups. In highlight, only in the high α -MSH group it was observed a significant increase of the α -MSH/NPY ratio and decrease NPY/AgRP ratio post treatment. **Conclusion:** The high α -MSH concentration promotes better modulation of anorexigenic/orexigenic pathways in obese adolescents following long-term weight loss therapy and this is important in the clinical practice.

Introduction

Energy balance is controlled through several physiological signals that regulate food intake in both short- and long-term promoting whole body homeostasis. The body energy is regulated by the arcuate nucleus (ARC) of the hypothalamus through release of orexigenic and anorexigenic neuropeptides. The release of these neuropeptides is regulated by endocrine and neuronal input, and when this signaling pathway fails, the energy balance is deregulated [1,2,3].

Neurons expressing these neuropeptides interact with peripheral signals, such as leptin signaling, acting to energy balance pathways. There are neurons that synthesize the anorexigenic neuropeptides cocaine-and-amphetamine regulated transcript (CART) and proopiomelanocortin (POMC). When stimulated, POMC releases hypothalamic alpha-melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) which is a key catabolic mediator of energy homeostasis. The peptide α -MSH is a part of the melanocortin system, which is made up of α , β , and γ – MSH, adrenocorticotrophic hormone (ACTH), melanocortin receptors (MCR), agouti-related peptide (AgRP) and endogenous MCR antagonist [2,4].

In the ARC, also occurs the synthesis of orexigenic neuropeptides such as neuropeptide Y (NPY) and AgRP. These neuropeptides are inhibited by leptin, being antagonists of the α -MSH and modulating appetite stimulation, lipogenesis and reducing energy expenditure [2,4,5]. The deregulation in orexigenic and anorexigenic neuropeptides expression is the basis to understanding the positive energy balance and the determinant factor of the increase in adiposity associated with energy intake and low levels of physical activity.

In obesity, the hyperleptinemia state caused by increased adipose tissue may promote a hypothalamic resistance of this hormone action, deregulates anorexigenic neuropeptides expression, as the α -MSH and contributes to the positive energy balance in obese people [6,7]. In a previous study, it was demonstrated that 75% of obese adolescent present hyperleptinemia which may impaired weight loss therapy [8].

In this context, it was previously demonstrated negative correlations between BMI and α -MSH levels [9], indicating positive relationship between weight loss and the activation of anorexigenic pathways after long-term weight loss therapy [5]. The α -MSH also plays a role in thermogenesis regulation by mobilizing fat stores and increasing circulating free fatty acids, promoting a favorable environment for negative energy balance [1]. Moreover, recently the α -MSH was related to capability to promote browning effects, contributing to our understanding about energy expenditure in human [10].

New insights can suggest an association between α -MSH and its predictive role on response of weight loss therapy. However, as we know, this hormone it is not fully investigated in obese adolescents undergoing weight loss therapy [11,12]. We hypothesized that high concentration of α -MSH at baseline promotes better modulation of anorexigenic/orexigenic pathways in obese adolescents. Therefore, the present investigation aimed to assess the role of α -MSH levels on body adiposity and orexigenic/anorexigenic neuropeptides responses in obese adolescents submitted to long-term interdisciplinary therapy. In addition, this data also objective to contribute to the literature showing the effects of long-term weight loss therapy on the modulation of energy balance pathways.

Methods

Subjects

This study involved post pubertal 110 obese adolescents to both gender and age from 14 to 19 years. Inclusion criteria were Tanner stage five [13], primary obesity and BMI >97th percentile of the WHO reference growth charts. Non-inclusion criteria were the use of birth control pills, cortisone, anti-epileptic drugs, and history of renal disease, alcohol intake, smoking, and secondary obesity due endocrine disorders.

The study was conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics committee on research at the Universidade Federal de Sao Paulo-UNIFESP (#0135/04), Clinical Trials: NCT01358773. To determine sample size was used G*Power software version 3.1.7. The sample size with 108 volunteers is required to level of significance with $p < 0.05$, effect size to 30% and observed power of 80% for the ANOVA two-way test. Predicting the dropout between 20 and 30% the treatment was started with 148 participants and was completed with 110 adolescents. The main reasons for the treatment drop out were financial and family problems, followed by school and job opportunities.

Anthropometric Measurements and Body Composition

The weight was measured on a Filizola scale to the nearest 0.1 kg and the height was measured to the nearest 0.5 cm with a wall mounted stadiometer (Sanny, model ES 2030). The BMI was calculated as body weight divided by height squared (wt/ht^2). Body composition was measured by air displacement plethysmography in a BOD POD body composition system (version 1.69; Life Measurement Instruments,

Concord, CA). For this procedure, the volunteers were instructed to be wearing light clothing and barefoot.

Serum Analysis

Blood samples were collected after an overnight fast (approximately 8:00 AM). Alpha MSH, MCH, AgRP and NPY were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit from R&D Systems (Minneapolis, MN, USA). Anorexigenic ratio α -MSH/NPY and orexigenic ratio NPY/AgRP were calculated.

Research Design

The interdisciplinary weight loss program included clinical, nutritional, psychological physiotherapy and combined exercise training (aerobic plus resistance training) for change in lifestyle with body weight reduction targets between 5 and 10%. All measurements were performed before and after 1 year of intervention. For statistical analyses, at the end of the study, the volunteers were grouped according to baseline values of α -MSH by Tertiles: Low (<0.75 ng/ml), Medium (≤ 0.76 to ≥ 1.57 ng/ml) and High (>1.57 ng/ml) (Figure 1).

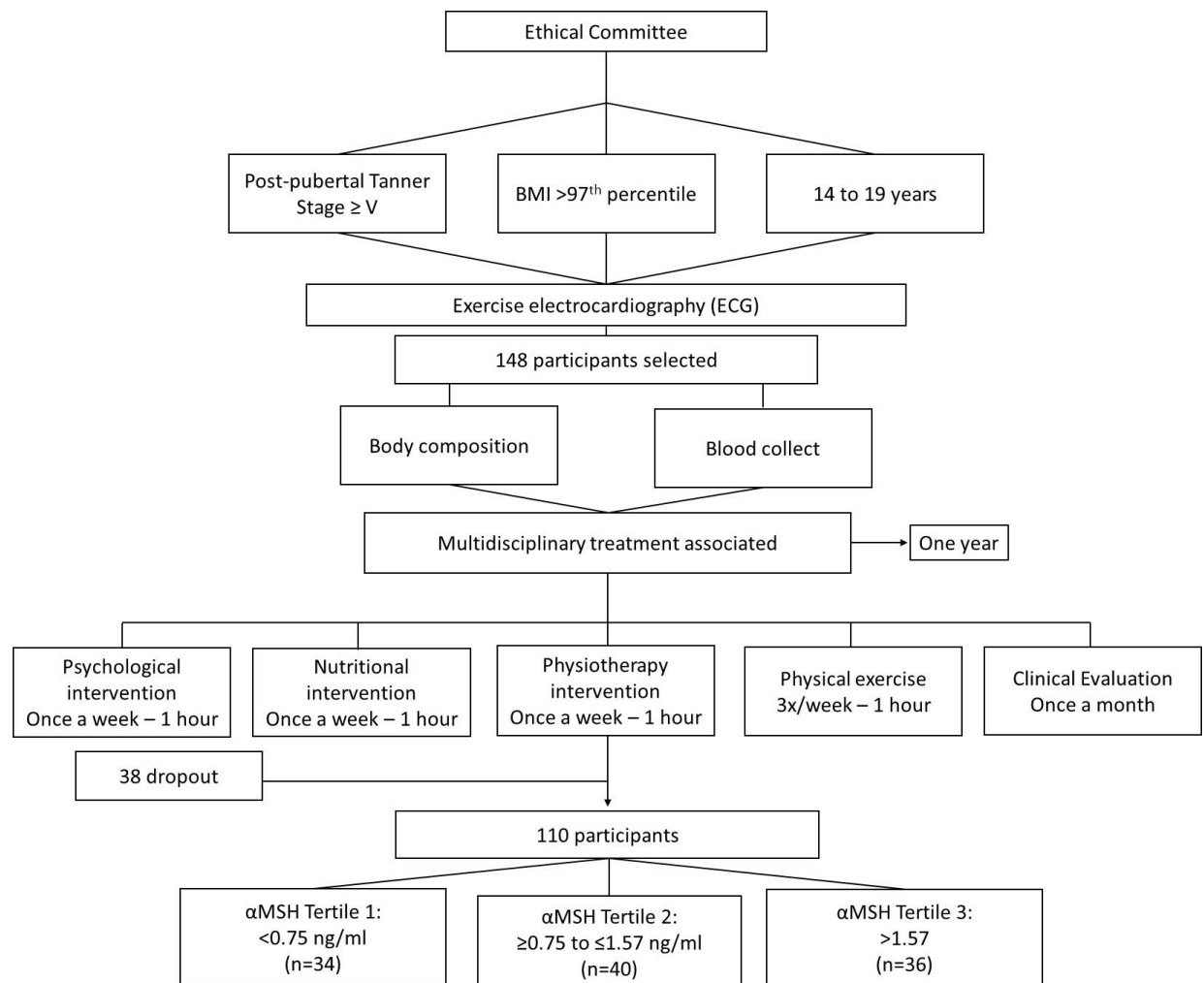


Figure 1. Diagram of the multidisciplinary therapy

Clinical Therapy

In the first visit the endocrinologist to determine de inclusion criteria (BMI and post pubertal diagnosis). Medical treatment and follow-up were based on an initial patient and family history, physical examination, and intervention in any health problems that the patient developed over the course of the therapy. The adolescents clinical support it happened monthly for the assessment of health and clinical parameters.

Nutritional Therapy

The nutritional therapy was conducted by two pathways. First, energy intake was set individually for each volunteer and the amount of macronutrients and micronutrients was prescribed according to the Dietary Reference Intake for subjects with low levels of physical activity of the same age and gender. The distribution of macronutrients was between 25-35% for fat, 45-65% for carbohydrate and 10-30% for protein and some micronutrients such as iron, calcium, vitamin C and vitamin D, for example, had their intake normalized by including food sources of these nutrients if necessary [14]. Second, once a week, adolescents received dietetics lessons covering the topics related to a healthy eating pattern (Example: low-calorie foods, diet and light foods, weight loss diets, good food choices on holidays, weekends and celebrations, food labels and other related topics). All participants received these two interventions. No pharmacotherapies, supplementation or antioxidant were prescribed.

Psychological Therapy

The volunteers received weekly group session (1-hour). The psychological therapy and the themes talked were conducted based on validated questionnaires considering some of the psychological problems caused by obesity: depression, eating disorders, anxiety, decreased self-esteem, and body-image disorders. Individualized psychological therapy was recommended when serious problems were found.

Exercise Protocol

The exercise program was based on guidelines from the American College of Sports Medicine [15] and was performed three times per week and included 30 minutes of aerobic training plus 30 minutes of resistance training per session. All sessions were rigorously supervised by an experienced physiologist. The subjects were instructed to reverse the order of the exercises (aerobic and resistance) at each training session. The aerobic training consisted of running on a motor-driven treadmill (Life Fitness – Model TR 9700HR) at a cardiac frequency intensity representing ventilatory threshold 1 (± 4 bpm), according to the results of an initial oxygen uptake test for aerobic exercises. Resistance training was prescribed to main muscle groups and the load of exercise was adjusted after 2 weeks for adaptation to the movement and minimum initial load. Each 8-week, the intensity (load) and volume (repetitions) were adjusted inversely: when decreasing the number of repetitions (from 15 – 20 to 10 – 12 and 6 – 8 repetitions) the load was increased, for three sets.

Physiotherapy

The subjects participated in a weekly intervention with two physical therapists (1-hour). The themes of these group interventions were global postural reeducation, isostretching, diaphragmatic breathing, hydrotherapy, balance, and stretching. Individual assessment was also performed if the patient had any injuries.

Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using STATISTICA software version 7.0 for Windows (StartSoft, Tulsa OK, USA) with the level of statistical significance set at $p < 0.05$. Data normality was verified with the Kolmogorov–Smirnov test. Parametric data were expressed as mean $\pm$ SD while variables that did not have a normal distribution were normalized by Zscore. Comparisons between genders at baseline were performed by test t and measurements before and after intervention were performed using the ANOVA repeat measures. ANOVA two-way test was applied to compare delta variables among the groups. The test Generalized Linear Model (GLzMM) was used with Gama distribution the following variables of interest: MCH, α -MSH, AGPR, NPY and the α -MSH/NPY and NPY/AgRP ratio. The choice of distribution considered was based on parsimony between the exploratory analysis of histograms and in the balance good fit Akaike information criterion (AIC) and Bayesian information criterion (BIC). Significance was set as $p < 0.05$.

Results

The study comprised a sample of 110 volunteers grouped according to α -MSH levels at baseline: Tertile 1 ($< 0,75$ ng/ml; $n=37$), Tertile 2 ($\geq 0,75$ to $\leq 1,57$ ng/ml; $n=40$) and Tertile 3 ($> 1,57$ ng/ml; $n=36$).

Descriptive data and baseline values

Table 1 presents descriptive data for all volunteers and separated by gender in baseline. The comparison showed significant differences in weight, BMI, percentage

of fat and fat-free mass in percentage and in kilograms when the volunteers were separated by gender.

Table 1. Descriptive data of body composition and energy balance parameters on all volunteers and by gender.

	All (n=110)	Girls (n=67)	Boys (n=43)
Age	16.5±2.2	16.5±2.6	16.4±1.3
Weight (kg)	107.8±15.2	100.9±15.9	108.3±17.3*
BMI (kg/m²)	37.1±5.1	37.5±5.2	34.9±4.7*
Body fat (%)	46.2±5.0	48.4±5.3	40.5±6.6*
Body fat (kg)	50.1±10.3	49.0±11.5	44.5±12.9
Free fat mass (%)	53.8±5.0	51.7±5.2	59.5±6.6*
Free fat mass (kg)	57.7±8.1	51.5±6.6	63.8±8.2*
MCH	2.1±0.7	5.5±3.0	5.1±2.4
AgRP	0.3±0.1	0.8±0.7	1.0±1.5
NPY	1.0±0.4	1.0±0.8	0.9±0.7
α-MSH	0.5±1.4	1.4±0.8	1.3±0.8
α-MSH/NPY	0.53±0.3	0.9±0.7	0.9±1.2

Data represented by Mean ± Standard deviation.

*Differences between Boys and Girls at Baseline.

Comparing the baseline data between all three groups, there were no significant differences in weight (kg), BMI (kg/m²), body fat (%) and kg) and free fat mass (%) and kg). Considering the neuropeptides analyses α-MSH, NPY, AgRP and MCH were different between Tertile 3 to 1 and 2, where the Tertile 3 group showed significantly higher values compared with Tertile 1 and 2 groups at baseline. The α-MSH/NPY ratio was significant higher in the Tertile 2 to Tertile 1 at baseline and NPY/AgRP ratio was lower in Tertile 2 compared to Tertile 1 (Table 2 and Table 3).

Effects of different concentrations of alpha-MSH on the long-term obesity treatment

The interdisciplinary therapy over 1 year of intervention promoted a significant reduction in body weight (kg), BMI (kg/m^2), body fat (% and kg) and improvement in free fat mass (% and kg) in all groups (Table 1). Regarding the neuropeptides, only in the Tertile 3 group there was significant change in α -MSH, MCH, α -MSH/NPY ratio and NPY/AgRP ratio only in Tertile 3 (Table 2 and Table 3).

Table 2. Descriptive data of body composition parameters on different Tertile of α -MSH in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy.

	Tertile 1 (n=34)				Tertile 2 (n=40)				Tertile 3 (n=36)			
	Baseline	Year	p	Δ	Baseline	Year	p	Δ	Baseline	Year	p	Δ
Weight (kg)	107.8±15.2	95.2±15.6*	<0.05	-12.6±7.7	104.6±17.3	95.3±18.4*	<0.05	-9.3±8.6	99.1±17.1	94.7±17.6*	<0.05	-4.4±5.4 ^{‡§}
BMI (kg/m ²)	37.1±5.1	32.1±4.9*	<0.05	-5.0±2.6	37.2±5.3	33.7±5.6*	<0.05	-3.5±3.1 [†]	34.9±5.0	33.5±5.1*	<0.05	-1.4±1.9 ^{‡§}
Body fat (%)	46.2±5.0	39.5±6.9*	<0.05	-6.7±4.2	46.3±7.2	36.9±9.3*	<0.05	-9.4±5.6	43.4±8.1	39.9±7.2*	<0.05	-3.5±4.8 [§]
Body fat (kg)	50.1±10.3	38.2±11.1*	<0.05	-11.9±6.9	58.3±12.5	35.9±13.4*	<0.05	-22.4±11.9	43.3±12.7	38.2±11.4*	<0.05	-5.1±6.6 [§]
Free fat mass (%)	53.8±5.0	60.4±6.9*	<0.05	6.6±4.3	53.9±7.0	63.0±9.3*	<0.05	9.1±9.5	56.6±8.1	60.1±7.2*	<0.05	3.5±4.8 [§]
Free fat mass (kg)	57.7±8.1	57.1±8.3*	<0.05	-0.6±2.2	55.8±9.7	59.3±10.6*	<0.05	3.5±9.9	55.7±10.3	57.0±10.6*	<0.05	1.3±8.8 [§]

Data represented by Mean ± Standard deviation.
P values were expressed at table to compared Baseline vs. Year in the same Tertile.
*Significant difference between Baseline and Year to same tertile; [†]Significant difference between Delta to Tertile 2 vs Tertile 1; [‡]significant difference between Delta to Tertile 3 vs Tertile 1; [§]Significant difference between Delta to Tertile 3 vs Tertile 2.
BMI: Body Mass Index.

Table 3. Descriptive data of anorexigenic and orexigenic parameters on different Tertiles of α -MSH in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy.

	Tertile 1 (<i>n</i> =37)				Tertile 2 (<i>n</i> =40)				Tertile 3 (<i>n</i> =36)			
	Baseline	Year	P	Δ	Baseline	Year	p	Δ	Baseline	Year	p	Δ
α-MSH	0.5 $\pm$ 1.4	0.5 $\pm$ 1.9	-	0.0 $\pm$ 0.1	1.2 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.4	-	0.1 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.6 ^{†‡}	1.6 $\pm$ 0.7 [*]	<0.05	-0.7 $\pm$ 0.9
NPY	1.0 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.4	-	0.1 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 1.3	1.8 $\pm$ 3.0	-	0.5 $\pm$ 3.1	2.8 $\pm$ 1.3 ^{†‡}	1.6 $\pm$ 0.6	-	-1.2 $\pm$ 1.3 [§]
AgRP	0.3 $\pm$ 0.1	0.3 $\pm$ 0.1	-	0.0 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.6	-	0.1 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 2.2 ^{†‡}	3.2 $\pm$ 2.2	-	1.0 $\pm$ 2.5 [§]
MCH	2.1 $\pm$ 0.7	2.7 $\pm$ 1.0	-	0.7 $\pm$ 0.9	4.5 $\pm$ 2.6	4.7 $\pm$ 2.1	-	0.2 $\pm$ 1.5	7.1 $\pm$ 2.0 ^{†‡}	5.5 $\pm$ 2.3 [*]	<0.05	-1.6 $\pm$ 4.8 [§]
α-MSH/NPY	0.5 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.3	-	-0.2 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 1.0 [‡]	0.8 $\pm$ 1.0	-	-0.5 $\pm$ 1.1	1.1 $\pm$ 1.1	2.3 $\pm$ 1.5 [*]	<0.05	1.2 $\pm$ 1.5 [§]
NPY/AgRP	4.6 $\pm$ 2.4	5.9 $\pm$ 4.0	-	1.4 $\pm$ 3.3	2.4 $\pm$ 1.4 [‡]	3.0 $\pm$ 2.0	-	0.5 $\pm$ 1.9	1.8 $\pm$ 0.7	0.9 $\pm$ 0.7 [*]	<0.05	-0.9 $\pm$ 1.0 [§]

Data represented by Mean $\pm$ Standard deviation.

P values were expressed at table to compared Baseline vs. Year in the same Tertile.

*significant difference between Baseline and Year to same tertile; ‡ significant difference between Baseline to Tertile 2 vs. Tertile 1; † significant difference between Baseline to Tertile 3 vs. Tertile 1; ‡significant difference between Baseline to Tertile 3 vs. Tertile 2; §significant difference between Delta to Tertile 3 vs Tertile 1; ||significant difference between Delta to Tertile 3 vs Tertile 2.

MCH: Melanin-concentrating hormone; AgRP: agouti-related peptide; NPY: neuropeptide Y; α -MSH: alpha-melanocyte-stimulating hormone.

When analyzed delta values between the groups, significant difference was observed in body weight and BMI, where Tertile 1 presented higher values of delta. To body fat and free fat mass values the differences were between Tertile 3 to Tertile 2 and the higher delta values were in Tertile 2 (Table 2).

The relationship between α -MSH levels and orexigenic effects were observed in different delta values of MCH and α -MSH/NPY in all groups. Higher levels of α -MSH (Tertile 3) presents significant more changes in α -MSH/NPY ratio and MCH compared to Tertile 1 and 2 and NPY/AgRP ratio compared to Tertile 1 (Table 3).

There were significant statistical differences when comparing the anorexigenic (α -MSH), orexigenic (NPY, AgRP and MCH) and ratio to anorexigenic (α -MSH/NPY) and orexigenic (NPY/AgRP) pathways variables of the three groups after treatment. As expected in the Tertile 3, the α -MSH/NPY ratio was significantly higher and NPY/AgRP ratio was lower compared to Tertile 1 and 2 (Table 4).

Table 4. Comparative data of anorexigenic and orexigenic parameters post treatment on different Tertiles of α -MSH in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy.

		Tertile 1 (n=34)	Tertile 2 (n=40)	Tertile 3 (n=36)
Anorexigenic variable	α -MSH	0.5±0.3	1.2±0.7*	1.6±0.9*†
	AgRP	0.3±0.3	0.8±0.8*	3.1±3.4*†
Orexigenic variable	NPY	1.1±1.2	1.9±1.9*	1.6±1.7*
	MCH	2.7±3.2	4.7±2.7*	5.5±3.3*
Anorexigenic ratio	α -MSH/NPY	0.3±0.5	0.8±1.1*	2.3±3.2*†
Orexigenic ratio	NPY/AgRP	5.9±9.3	3.2±4.4*	0.9±1.3*†

Data represented by Mean ± Standard deviation.

*significant difference to Tertile 1; † significant difference to Tertile 2. Generalized Linear Model (GLzMM).

Discussion

The α -MSH levels appears to be an important key to understand the complex mechanism of energy balance control. In this way, the aim of the present investigation was to assess the role of α -MSH levels on body adiposity and orexigenic/anorexigenic neuropeptides responses in obese adolescents submitted to long-term interdisciplinary therapy. Interestingly, in the present study, we observed significant modulation in body composition components, independent of α -MSH levels showing the positive effects of weight loss therapy. However, the most important find of this study was that only when α -MSH is high in obese patients before treatment, there is a significant modulation of anorexigenic and orexigenic pathways after long-term intervention.

We hypothesized that high α -MSH concentration at baseline promote better modulation of anorexigenic/orexigenic pathways in obese adolescents. Only in volunteers with high α -MSH levels it was observed significant increase in α -MSH/NPY ratio and decrease NPY/AgRP ratio post-treatment, showed a possible better modulation of energy balance variables when compared with low and medium α -MSH levels. Even though weight loss occurred in all groups, it was observed that α -MSH levels could influence the control of energy balance homeostasis, which can be decisive in maintaining weight post treatment, yo-yo effect prevention and improve the adherence to health life style post treatment.

To our knowledge, this is the first study to show the behavior of neuroendocrine neuropeptides and body composition variables considering the different concentrations of α -MSH at baseline. The antagonist relationship between α -MSH and NPY has been described. In normal conditions, the NPY/AgRP system are directly stimulated by ghrelin, which leads to an increase in energy intake and

acts to depress the activity of α -MSH in the hypothalamus. In a fed state, the leptin levels suppress NPY and AgRP neurons, stimulates a POMC and consequently α -MSH [1,2]. Besides the function of energy balance control by anorexigenic/orexigenic axis, both neuropeptides also affect the metabolism profile acting in the physiology of adipose tissue: NPY affects the adipogenesis and α -MSH is responsible for lipolysis [4,10,16].

Composing the melanocortin system (MC), the α -MSH anorexigenic effects is mediated by specific receptors in the ARC (MC3R and MC4R). Recently, other properties than to modulate the activity of a broad neural network regulating food intake by suppress of the appetite explain possible influences of the α -MSH in the weight loss and reestablishment of balanced neuroendocrine functions. The MC4R and MC5R, receptor of α -MSH too, have been related to stimulation of metabolic pathways by lipid mobilization and increase in the thermogenesis. This mechanism could occur in sympathetic nervous system by β -adrenergic receptors causing uncoupling of terminal oxidation and ATP production to white adipose tissue and brown adipose tissue [4,17, 18,19,20].

The ability of arcuate POMC and AgRP neurons to be regulated by hunger and satiety circulating hormones, including leptin, insulin, ghrelin, estrogens, glucocorticoids, glucagon like peptide 1, and peptide YY makes the MC system sensitive to changes in nutritional status. For instance, differences in hypothalamic leptin sensitivity presented in obese people (hyperleptinemia state) can influence the stimulation of α -MSH hormone and promotes failures in satiety by lack stimulation of anorexigenic pathways [21, 22]. Since this was a human study, we were not able to clarify more molecular mechanisms, such as α -MSH receptors sensitivity. However, we believe that this study provides relevant findings to adolescent obesity treatment

and contributes to better understand of human physiology behavior in long-term clinical trials.

In this perspective, Oyama et al. [5] demonstrated how weight loss magnitude can modulate the anorexigenic responses. The α -MSH levels in patients with a small weight loss was reduced significantly; and in massive weight loss α -MSH levels was significantly increased followed by attenuations in NPY and modulations in feeding behavior. Moreover, in the weight loss protocol, the exercise training was suggested as an important tool for modulation to anorexigenic/orexigenic pathway. In this perspective, Carnier et al [11] showed how different types of exercise can modulate α -MSH responses, independently of food ingestion, when supported by a 1 year of multicomponent weight loss therapy. The aerobic training was able to increase α -MSH levels more than aerobic plus resistance exercise (concurrent training). Despite this result, concurrent exercise in the multidisciplinary context was effective for modulating other important obesity variables involved in metabolic syndrome, nonalcoholic fat liver, bone mineral density and hyperleptinemia [23, 24, 25, 26, 27], justifying why we chose this exercise protocol. It's important to emphasize that despite the results found by Carnier et al [11] we were able to show improvement in body composition and neuroendocrine modulation with this exercise protocol.

Data that show the behavior of energy balance variables in weight loss therapy contribute with improvements in literature due to the lack of studies about the thematic. Our study, in which long-term multidisciplinary weight loss therapy was able to reduce weight, BMI and increase the free fat mass [9,28], brings a new perspective of how anorexigenic neuropeptide levels detection before treatment can be positive to clinical practice. This study presents some limitations: The leptin

levels were not determined to correlate with α -MSH levels, the small sample size post treatment and lack of a lean control group.

Conclusion

In summary, the present study showed the impact of different baseline α -MSH levels in modulation of anorexigenic/orexigenic pathways after one year of multidisciplinary therapy in obese adolescents. Although the treatment changes body composition in all groups; only in high levels of α -MSH we could observe significant modulation of anorexigenic/orexigenic pathway. These results suggest that patients with low levels of α -MSH may have impairments in the regulation of energy balance by pathways of hunger and satiety which would increase the chances of weight regain and no adherence to post treatment life style changes.

Acknowledgments

FAPESP (2013/041364; 2013/19046-0; 2013/08522-6; 2017/073772-1), CNPq (573587/2008-6; 300654/2013-8; 150177/2014-30; 409943/2016-9) and CAPES.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

References

- [1] Roh E, Kim MS. Brain Regulation of Energy Metabolism. *Endocrinol Metab* (Seoul) 2016;31(4):519-524. doi: 10.3803/EnM.2016.31.4.519.
- [2] Fuqua JS, Rogol AD. Neuroendocrine alterations in the exercising human: implications for energy homeostasis. *Metabolism* 2013;62:911-21. doi: 10.1016/j.metabol.2013.01.016.
- [3] Dhillon WS. Appetite regulation: an overview. *Thyroid* 2007;17:433–45.

- [4] Shipp SL, Cline MA, Gilbert ER. Recent advances in the understanding of how neuropeptide Y and α -melanocyte stimulating hormone function in adipose physiology. *Adipocyte*. 2016;5:333-350.
- [5] Oyama LM, do Nascimento CM, Carnier J, de Piano A, Tock L, Sanches Pde L, Gomes FA, Tufik S, de Mello MT, Dâmaso AR. The role of anorexigenic and orexigenic neuropeptides and peripheral signals on quartiles of weight loss in obese adolescents. *Neuropeptides* 2010;44:467-74. doi: 10.1016/j.npep.2010.07.002.
- [6] Hoggard N, Johnstone AM, Faber P, Gibney ER, Elia M, Lobley G, Rayner V, Horgan G, Hunter L, Bashir S, Stubbs RJ. Plasma concentrations of alpha-MSH, AgRP and leptin in lean and obese men and their relationship to differing states of energy balance perturbation. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;61(1):31-9.
- [7] Dâmaso AR, de Piano A, Sanches PL, Corgosinho F, Tock L, Oyama LM, Tock L, do Nascimento CM, Tufik S, de Mello MT. Hyperleptinemia in obese adolescents deregulates neuropeptides during weight loss. *Peptides* 2011;32:1384-91. doi: 10.1016/j.peptides.2011.04.025.
- [8] Vehapoğlu A, Türkmen S, Terzioğlu Ş. Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone and Agouti-Related Protein: Do They Play a Role in Appetite Regulation in Childhood Obesity? *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2016 Mar 5;8(1):40-7. doi: 10.4274/jcrpe.2136. Epub 2015 Dec 18.
- [9] Dâmaso AR, de Piano A, Campos RM, Corgosinho FC, Siegfried W, Caranti DA, Masquio DC, Carnier J, Sanches Pde L, Leão da Silva P, Nascimento CM, Oyama LM, Dantas AD, de Mello MT, Tufik S, Tock L. Multidisciplinary approach to the treatment of obese adolescents: effects on cardiovascular risk factors, inflammatory profile, and neuroendocrine regulation of energy balance. *Int J Endocrinol* 2013;541032. doi: 10.1155/2013/541032.
- [10] Feichtinger RG, Pétervári E, Zopf M, Vidali S, Aminzadeh-Gohari S, Mayr JA, Kofler B, Balaskó M. Effects of alpha-melanocyte-stimulating hormone on mitochondrial energy metabolism in rats of different age-groups. *Neuropeptides* 2016;26: S0143-4179(16)30089-0. doi: 10.1016/j.npep.2016.08.009.
- [11] Carnier J, de Mello MT, Ackel-DElia C, Corgosinho FC, Campos RM, Sanches Pde L, Masquio DC, Bueno CR Jr, Ganen AP, Martins AC, Caranti DA, Tock L, Clemente AP, Tufik S, Dâmaso AR. Aerobic training (AT) is more effective than aerobic plus resistance training (AT+RT) to improve anorexigenic/orexigenic factors in obese adolescents. *Appetite* 2013;69:168-73. doi: 10.1016/j.appet.2013.05.018.
- [12] Cook CM, Schoeller DA. Physical activity and weight control: conflicting findings. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2011;14(5):419-24. doi: 10.1097/MCO.0b013e328349b9ff.
- [13] Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child* 1976;51(3):170-9.

- [14] NCR. Dietary Reference Intake: Applications in Dietary Assessment. Washington, DC; National Academic Press, 2001.
- [15] Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK; American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41(2):459-71. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181949333.
- [16] Rostás I, Füredi N, Tenk J, Mikó A, Solymár M, Soós S, Székely M, Pétervári E, Balaskó M. Age-related alterations in the central thermoregulatory responsiveness to alpha-MSH. *J Therm Biol* 2015;49-50:9-15. doi: 10.1016/j.jtherbio.2015.01.004.
- [17] Mountjoy KG. Distribution and function of melanocortin receptors within the brain. *Adv Exp Med Biol* 2010;681:29-48. doi: 10.1007/978-1-4419-6354-3_3.
- [18] Rodrigues AR, Almeida H, Gouveia AM. Alpha-MSH signaling via melanocortin 5 receptor promotes lipolysis and impairs re-esterification in adipocytes. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Jul;1831(7):1267-75.
- [19] Richard D, Monge-Roffarello B, Chechi K, Labbé SM, Turcotte EE. Control and physiological determinants of sympathetically mediated brown adipose tissue thermogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012;3:36. doi: 10.3389/fendo.2012.00036.
- [20] Song CK, Vaughan CH, Keen-Rhinehart E, Harris RB, Richard D, Bartness TJ. Melanocortin-4 receptor mRNA expressed in sympathetic outflow neurons to brown adipose tissue: neuroanatomical and functional evidence. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;295(2):R417-28. doi: 10.1152/ajpregu.00174.2008.
- [21] Soos S, Pétervári E, Székely M, Jech-Mihalffy A, Balaskó M. Complex catabolic effects of central alpha-MSH infusion in rats of altered nutritional states: differences from leptin. *J Mol Neurosci* 2011;43(2):209-16. doi: 10.1007/s12031-010-9462-6.
- [22] Nuzzaci D, Laderrière A, Lemoine A, Nédélec E, Pénicaud L, Rigault C, Benani A. Plasticity of the Melanocortin System: Determinants and Possible Consequences on Food Intake. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2015; 14(6):143. doi: 10.3389/fendo.2015.00143.
- [23] Ackel-D'Elia C, Campos RMS, Corgosinho FC, Masquio DCL, Clemente APG, Tock L, de Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. Aerobic plus resistance training on pro-anti-inflammatory adipokines in obese adolescents. *Eur J Sport Exe Sci* 2014;3: 5-17.
- [24] Campos RM, de Mello MT, Tock L, Silva PL, Masquio DC, de Piano A, Sanches PL, Carnier J, Corgosinho FC, Foschini D, Tufik S, Dâmaso AR. Aerobic plus resistance training improves bone metabolism and inflammation in adolescents who are obese. *J Strength Cond Res* 2014;28(3):758-66. doi: 10.1519/JSC.0b013e3182a996df.

- [25] Sanches PL¹, de Mello MT, Elias N, Fonseca FA, Campos RM, Carnier J, de Piano A, Masquio DC, Silva PL, Oyama LM, Corgosinho FC, Nascimento CM, Tock L, D'Elia CA, Tufik S, Dâmaso AR. Hyperleptinemia: implications on the inflammatory state and vascular protection in obese adolescents submitted to an interdisciplinary therapy. *Inflammation* 2014;37(1):35-43. doi: 10.1007/s10753-013-9709-9.
- [26] Dâmaso AR, da Silveira Campos RM, Caranti DA, de Piano A, Fisberg M, Foschini D, de Lima Sanches P, Tock L, Lederman HM, Tufik S, de Mello MT. Aerobic plus resistance training was more effective in improving the visceral adiposity, metabolic profile and inflammatory markers than aerobic training in obese adolescents. *J Sports Sci* 2014;32(15):1435-45. doi: 10.1080/02640414.2014.900692.
- [27] de Piano A, de Mello MT, Sanches Pde L, da Silva PL, Campos RM, Carnier J, Corgosinho F, Foschini D, Masquio DL, Tock L, Oyama LM, do Nascimento CM, Tufik S, Dâmaso AR. Long-term effects of aerobic plus resistance training on the adipokines and neuropeptides in nonalcoholic fatty liver disease obese adolescents. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2012;24(11):1313-24.
- [28] Masquio DC, de Piano A, Campos RM, Sanches PL, Carnier J, Corgosinho FC, Netto BD, Carvalho-Ferreira JP, Oyama LM, Nascimento CM, de Mello MT, Tufik S, Dâmaso AR. The role of multicomponent therapy in the metabolic syndrome, inflammation and cardiovascular risk in obese adolescents. *Br J Nutr*. 2015;113(12):1920-30. doi: 10.1017/S0007114515001129.

Artigo 2

6.2 Artigo 2

Adipocytokine and appetite-regulating-hormones response to weight loss in adolescents with obesity: impact of weight loss magnitude

Ana Claudia Pelissari Kravchychyn¹, Raquel Munhoz da Silveira Campos², Luciana Oliveira e Silva^{1,6}, Flávia Campos Corgosinho³, Deborah Cristina Landi Masquio⁴, Aline de Piano Ganen⁵, Sofia Emanuelle de Castro Ferreira Vicente¹, Yasmin Alaby Martins Ferreira¹, Lila Missae Oyama¹, Lian Tock¹, Marco Túlio de Mello⁵, Sérgio Tufik⁶, David Thivel⁷, Ana Raimunda Dâmaso¹

¹Post Graduate Program of Nutrition, Federal University of Sao Paulo; Paulista Medicine School, Sao Paulo, Brazil; ²Post Graduate Program of Interdisciplinary Health Sciences, Federal University of Sao Paulo, Campus Baixada Santista, Santos, Brazil; ³Federal University of Goias; Goiania, Brazil, ⁴Sao Camilo University Center; Sao Paulo, Brazil, ⁵School of Physical Education, Physiotherapy and Occupational Therapy, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ⁶Department of Psychobiology, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Sao Paulo, Brazil ⁷Clermont Auvergne University, CRNH Auvergne, France.

Corresponding author:

Ana Claudia Pelissari Kravchychyn. MSc. & Ana R. Dâmaso. PhD.

Post-Graduation Program of Nutrition. Paulista Medicine School – Universidade Federal de São Paulo. Rua Botucatu, 862 – Vila Clementino - São Paulo/ SP – Postal

Code: 04024-002 Phone/FAX: (5511) Tel: (+55) 11 5576-4848. Brazil.

email: anapelissari@hotmail.com / ana.damaso@unifesp.br

Abstract

Purpose: Our aim was to investigate the association between the magnitude of weight loss (WL) and serum concentrations of the main adipocytokines and appetite-regulating hormones in adolescents with obesity. **Methods:** 108 adolescents with obesity (14-19 years old; post-pubertal) were submitted to clinical, nutritional, psychological, physical exercise and physiotherapy support for one year. Body composition (BC) and plasma levels of neuropeptides and Leptin were measured at baseline and post intervention. **Results:** After therapy were compared adolescents who lost less than 10% body weight (LWL) and more than 10% body weight (HWL). Both groups presented reductions in BC and Leptin. The $\Delta\alpha$ -MSH, $\Delta\alpha$ -MSH/AgRP ratio and $\Delta\alpha$ -MSH/NPY ratio were lower and AgRP and NPY variations were higher in the LWL. The Leptin concentration was close to normal in the HWL only. The Δ Weight, $\Delta\alpha$ -MSH and Δ Leptin were associated with BF loss by multiple linear regression for all sample. **Conclusion:** High weight loss (above 10%) seems to reverse obesity-induced hyperleptinemia while stabilizing the neuropeptides that control appetite in adolescents with obesity. We were able to produce a prognostic mathematical model to predict BF loss using weight, Leptin and α -MSH variations.

Key-words: Obesity, Energy Balance, Weight Loss, Fat Loss, Interdisciplinary Therapy, Adipocytokine.

1. Introduction

The prevalence of obesity has dramatically increased over the last 30 years, reaching today worldwide proportions and being a global health problem. The World Health Organization (WHO) attributes this alarming progression to an increased intake with low food quality accompanied by a decrease in physical activity as a result of societal and environmental changes (WHO, 2018). Aiming to reduce this prevalence, especially in children and adolescents, multidisciplinary interventions are proposed, targeting the different causes of obesity [1,2,3,4,5].

While the control of energy balance is multifactorial, body composition (free fat mass and body fat) has been shown to affect both energy expenditure and food intake [6,7]. Fat mass and fat-free mass individual variabilities at baseline, as well as the magnitude of their responses to long-term interdisciplinary weight loss programs can determine the clinical improvements of anti-obesity interventions [8,9,10,11,12].

The positive energy balance characterizing obesity can be generated by the deregulation of some important appetite-regulating hormones that modulate orexigenic (neuropeptide Y – NPY, and agouti-related peptide - AgRP) and anorexigenic (Alpha-melanocyte-stimulating hormone - α -MSH) pathways [13]. One of these hormones is leptin, expressed in adipose cells and released in response to food intake by increased postprandial insulin, stimulating then the production of the anorexigenic neuropeptides α -MSH, derived from the neuropeptide proopiomelanocortin (POMC), and the cocaine-and-amphetamine regulated transcript (CART), inducing a satiety signal in the hypothalamus. Together, leptin and α -MSH can inhibit the orexigenic pathways in which NPY and AgRP have an inverse effect on α -MSH, stimulating energy intake [13,14,15].

Weight loss, depending on its magnitude, can bring countless benefits for health. Improvements in cardiovascular diseases and diabetes factors can be achieved even with modest weight loss (5 to <10%) while positive inflammatory and metabolic effects were observed when weight loss reaches 10% or more [16,17,18]. In adolescents with obesity, Oyama et al. [15], showed a downregulation of NPY and upregulation of α -MSH plasma concentrations in response to a 1-year interdisciplinary intervention, only in presence of a massive weight loss (about 12% of initial body weight). Such results call for further studies to better understand the role and importance of the magnitude of weight loss when it comes to the neuroendocrine factors regulating energy balance.

In that context, the primary aim of this study was to investigate the relationship between the magnitude of weight loss and the variations of the main adipocytokines and hormones that affect appetite in response to a one-year interdisciplinary intervention in adolescents with obesity. Secondly, we proposed to investigate which energy balance variables had the greatest impact on body fat loss responses. Our hypotheses were that: only substantial weight loss modulates the levels of adipocytokines and hormones that affect appetite; and that these variables, especially the anorexigenic factors, can be predictors of body fat loss.

2. Materials and Methods

2.1 Research design

A total of 148 adolescents with obesity (boys and girls, aged 14 to 19 years old) submitted to a one-year interdisciplinary weight loss therapy. Only 108 volunteers completed the treatment. Financial condition, family problems, jobs

opportunities and school schedule were the main reasons for dropout. None of the dropout were related to the intervention itself.

The main inclusion criteria were being stage five according to Tanner's classification [19]; BMI > 97th percentile of the WHO reference growth charts. Non-inclusion criteria were identified as previous drug utilization, alcohol intake, smoking, genetic, metabolic or endocrine disease. The present investigation was performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics committee on research at the Universidade Federal de Sao Paulo- Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM) (#0135/04), Clinical Trials: NCT01358773. Before the initial interventions, the volunteers and their legal representative signed consent forms.

After a medical inclusion visit realized by an endocrinologist to ensure the ability of the participants to complete the whole study; baseline clinical measurements were performed (Electro-Cardiogram, body composition, blood analysis) and the adolescents were enrolled in a one-year interdisciplinary weight loss program. All the clinical assessments were repeated at the end of the intervention. After the intervention, for analysis, participants were divided into two subgroups depending on their degree of weight loss: weight loss <10% (Lower WL; n=68) and weight loss $\geq$ 10% (Higher WL; n=40) (Figure 1) [16].

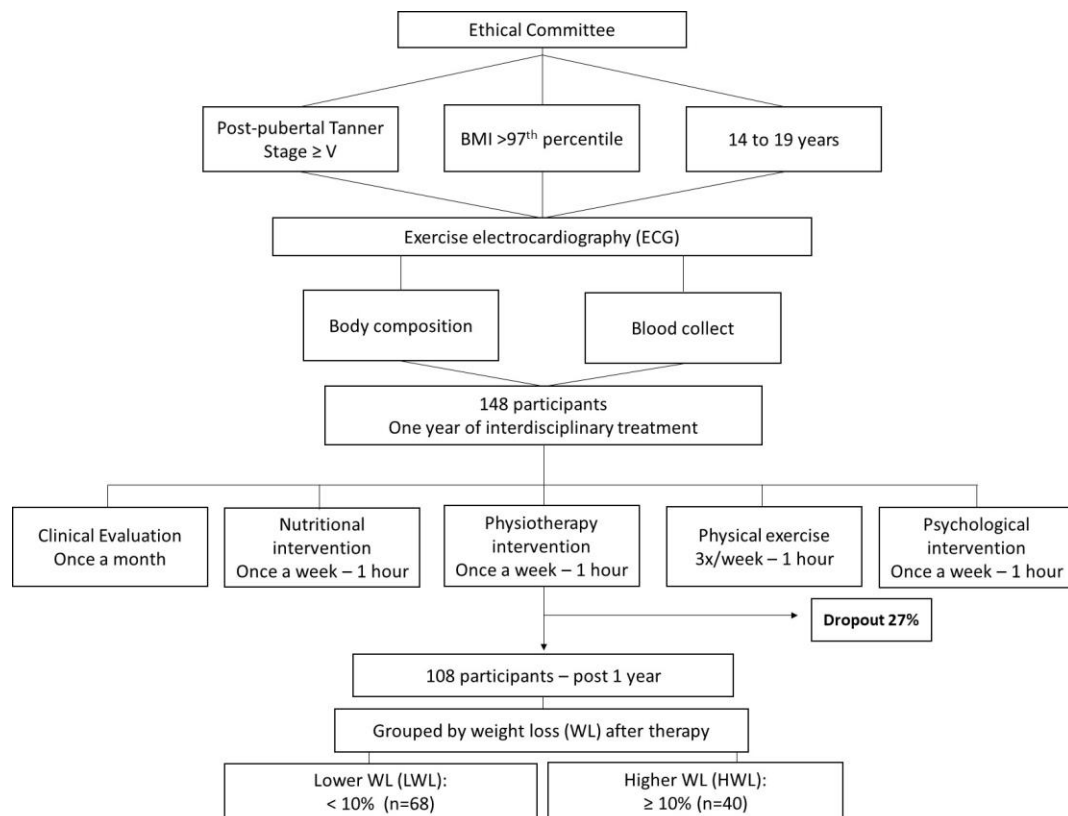


Figure 1. Design of study

2.2 Body Composition and Anthropometric Measurements

The anthropometric parameters measured were: weight (Filizola scale to the nearest 0.1 kg) and height (Sanny, model ES 2030 to the nearest 0.5 cm). Body Mass Index (kg/m^2) was then calculated as: $\text{Body weight (kg)}/\text{height (m)}^2$. Body fat and free fat mass (FFM) was measured by air displacement plethysmography in a BOD POD body composition system (version 1.69; Life Measurement Instruments, Concord, CA).

2.3 Serum Analysis

Blood samples were collected after an overnight fast to determine α -MSH, MCH, AgRP, NPY and Leptin. These blood variables were measured using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay kit (ELISA) kit from

R&D Systems (Minneapolis, MN, USA). The %CV for inter and intra assay performance were 12.0% and 3.1% to α -MSH, 19.0% and 2.7% to NPY, 18.1% and 4.6% to AgRP, and 21.9% and 2.8% to MCH. After the analyses, anorexigenic ratio α -MSH/AgRP and α -MSH/NPY were calculated. The cutoff for hyperleptinemia used were 24 ng/ml for girls and 20 ng/ml for boys [20].

2.4 Interdisciplinary weight-loss therapy

Clinical Therapy with endocrinologist

The clinical treatment was based on a family history and physical examination with control in any health problems that the adolescent developed during the therapy. General health and clinical indicators were monitored at least once per month by a physician.

Nutritional Therapy

The nutritional therapy was conducted by adjusting individual energy intake and providing nutritional education in group sessions. Daily energy intake was individually calibrated (every month) according to recommendations for adolescents with low levels of physical activity, considering age and gender. The distribution of macronutrients was: fat (25-35%), carbohydrate (45-65%) and protein (10-30%) [21]. The adolescents received 1-hour nutritional education session every week, addressing different topics related to healthy eating habits such as the food pyramid, weight loss, high fat diets, food labels, light foods, choices on special occasions. The adolescents did not use supplementations or drugs that could alter appetite during the intervention.

Psychological Therapy

Collective psychological sessions were organized once a week (one hour). Themes around psychological problems that are commonly associated with obesity such as depression, body image disturbance, anxiety and lower self-esteem were addressed during the sessions.

Exercise Protocol

The physical intervention consisted in 3 exercise sessions per week, each composed of 30 minutes of aerobic training plus 30 minutes of resistance training, as recommended by the American College of Sports Medicine guidelines [22].

The aerobic training included walking or running on treadmill (LifefitnessTM - Belmont Avenue; Franklin Park, IL, USA) or cycling on an ergometer. The exercise intensity was individually set between the adolescents' first and second ventilatory thresholds (± 4 bpm), previously determined during oxygen uptake test. The intensity was controlled during the session using heart rate monitors. Resistance sessions were performed in three sets and conducted on the principal muscle groups. The load of exercise was adjusted after 2 weeks of familiarization and then every eight weeks. The inversely proportion between volume and intensity was applied during each session. When the number of repetitions decreased (15 to 20, 10 to 12 and 6 to 8) the load was increased. The time-interval between sets and series did not change during the protocol. The adolescents were instructed and supervised by exercise physiologists during every session and encouraged to alternate the order of realization between aerobic and resistance exercises at each session.

Physiotherapy

One-hours group physiotherapy sessions were conducted once a week by a certified physical therapist, addressing global postural reeducation, diaphragmatic breathing, hydrotherapy, isostretching and balance. Individual sessions were also performed when needed (in case on injuries or pain for instance).

2.5 Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using STATISTICA software version 7.0 for Windows. Kolmogorov-Smirnov test was applied to verify the data normality. Parametric data were expressed as mean $\pm$ SD and non-parametric data were normalized by Z-score. The effects of intervention were analyzed by General Linear Model for repeated measures. The test Generalized Linear Model (GLzMM) was used with Gama distribution was applied to compare absolute delta variables among the groups. The choice of distribution considered was based on parsimony between the exploratory analysis of histograms and the balance of good fit Akaike information criterion (AIC) and Bayesian information criterion (BIC). Multiple Linear Regression analyses were performed to estimate the association between variables with significance correlation. Significance was set as $p < 0.05$. The sample size of 108 volunteers was defined using the G*Power[®] 3.0.10 program, considering the statistical analyses realized based on the magnitude of weight loss, two group and two times of intervention (baseline and after one year of treatment to weight loss).

3. Results

The weight loss therapy was completed by 108 adolescents then divided for analysis into two subgroups based on their degree of weight loss.

Difference data at baseline between groups

At baseline, the comparison between groups present no significant difference regarding body composition variables (weight, BMI, body fat - % and kg; and FFM - % and kg) and adiponectin levels. The anorexigenic ratio (α -MSH/NPY and α -MSH/AgRP) also presented no difference between groups at baseline. On the other hand, a statistically significant difference was found at baseline for of the anorexigenic and orexigenic neuropeptides. Alpha-MSH, anorexigenic neuropeptides and NPY, AgRP and MCH orexigenic neuropeptides values were higher in the LWL group. Leptin levels were significantly lower in the LWL group (Table 1).

Effects of weight loss therapy considering the whole sample

As detailed in Table 1, the one year interdisciplinary weight loss therapy promoted a significant decrease in body weight (from 104.1 ± 16.8 to 95.1 ± 17.2 kg, $p < 0.001$), BMI (from 36.6 ± 5.1 to 33.1 ± 5.2 kg/m², $p < 0.001$), body fat (from 45.6 ± 6.8 to $38.7 \pm 8.0\%$, $p < 0.001$ and from 47.5 ± 11.9 to 37.3 ± 11.0 kg, $p < 0.001$) and improvement in FFM (from 54.4 ± 6.7 to $61.3 \pm 8.0\%$, $p < 0.001$ and from 56.4 ± 9.5 to 57.7 ± 9.9 kg, $p < 0.001$).

When the orexigenic neuropeptides were analyzed, only AgRP presented a significant increase after one year (from 0.9 ± 1.2 to 1.3 ± 1.7 ng/ml, $p = 0.008$). Alpha-MSH (anorexigenic neuropeptide) significantly decreased at the end of the program compared with baseline (from 1.3 ± 0.8 to 1.1 ± 0.7 ng/ml, $p = 0.02$). A significant reduction in leptin was found (from 43.5 ± 26.1 to 29.1 ± 20.4 ng/ml, $p < 0.001$).

Lower weight loss effects (<10%) for adolescents with obesity

The LWL sample showed significantly reduced MCH (from 5.8 ± 2.8 to 4.9 ± 2.3 ng/ml, $p=0.003$) and α -MSH (from 1.6 ± 0.9 to 1.2 ± 0.7 ng/ml, $p<0.001$) with increased AgRP (from 1.2 ± 1.4 to 1.7 ± 1.8 ng/ml, $p=0.002$). The anorexigenic ratio α -MSH/NPY (from 0.9 ± 0.7 to 1.2 ± 1.3 , $p=0.03$) was significantly increased. The leptin concentration was significantly reduced (from 39.5 ± 27.1 to 32.4 ± 22.5 ng/ml, $p=0.04$) (Table 1).

Higher weight loss effects ($\geq 10\%$) for adolescents with obesity

None of the neuropeptides under study were significantly modified by the intervention and the leptin concentration was significantly reduced (from 52.6 ± 21.5 to 21.8 ± 12.4 ng/ml, $p<0.001$) (Table 1). Hyperleptinemia was close to normal for girls (cutoff: 24 ng/ml) and for boys (cutoff: 20 ng/ml) in the HWL group only.

Table 1. Descriptive data of body composition, anorexigenic and orexigenic parameters to all sample and on different groups of weight loss magnitude in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy.

	All (n=108)			LWL < 10% (n=68)			HWL ≥ 10% (n= 40)		
	Baseline	Year	<i>P</i>	Baseline	Year	<i>P</i>	Baseline	Year	<i>P</i>
Weight (kg)	104.1±16.8	95.1±17.2 [†]	<0.001	103.2±18.8	99.1±18.6 [†]	<0.001	105.5±13.0	88.3±11.9 [†]	<0.001
BMI (kg/m²)	36.6±5.1	33.1±5.2 [†]	<0.001	36.00±5.1	34.3±5.2 [†]	<0.001	37.5±5.0	31.2±4.7 [†]	<0.001
Body fat (%)	45.6±6.8	38.7±8.0 [†]	<0.001	44.7±7.0	40.1±7.2 [†]	<0.001	47.0±6.2	36.3±8.8 [†]	<0.001
Free fat mass (%)	54.4±6.7	61.3±8.0 [†]	<0.001	55.2±7.0	59.9±7.2 [†]	<0.001	53.2±6.1	63.8±8.9 [†]	<0.001
Body fat (kg)	47.5±11.9	37.3±11.0 [†]	<0.001	46.6±12.8	40.2±12.0 [†]	<0.001	49.4±10.2	32.2±10.5 [†]	<0.001
Free fat mass (kg)	56.4±9.5	57.9±9.9 [†]	<0.001	56.7±10.5	58.8±10.6 [†]	<0.001	55.8±7.4	56.1±8.5	0.69
α-MSH (ng/ml)	1.3±0.8	1.1±0.7 [†]	0.02	1.6±0.9	1.2±0.7 [†]	<0.001	0.9±0.6*	0.9±0.5	0.95
MCH (ng/ml)	5.3±2.8	4.8±2.3	0.31	5.8±2.8	4.9±2.3 [†]	0.003	4.2±2.5*	4.5±2.1	0.37
AgRP (ng/ml)	0.9±1.2	1.3±1.7 [†]	0.008	1.2±1.4	1.7±1.8 [†]	0.002	0.5±0.5*	0.5±0.6	0.78
NPY (ng/ml)	1.7±1.4	1.5±1.9	0.44	2.0±1.5	1.8±2.4	0.32	1.1±0.8*	1.1±0.5	0.82
Leptin (ng/ml)	43.5±26.1	29.1±20.4 [†]	<0.001	39.5±27.1	32.4±22.5 [†]	0.04	52.6±21.5*	21.8±12.4 [†]	<0.001
α-MSH/AgRP	2.1±1.2	1.9±2.3	0.46	1.9±1.2	1.5±1.1	0.68	2.3±1.1	2.5±3.5	0.71
α-MSH/NPY	1.0±0.9	1.1±1.3	0.78	0.9±0.7	1.2±1.3 [†]	0.03	1.0±1.2	0.8±1.2	0.18

Data represented by Mean ± Standard deviation. *Significant difference at Baseline compared to LWL. P values were expressed at table to compared Baseline vs. Year in the same group.

[†]Significant difference between Baseline and Year to same group. GLM measure repeated. BMI: Body Mass Index. MCH: Melanin-concentrating hormone; AgRP: agouti-related peptide; NPY: neuropeptide Y; α-MSH: alpha-melanocyte-stimulating hormone. Cutoff to hyperleptinemia state for girls: 24 ng/ml and for boys 20 ng/ml.

Comparison of magnitude of weight loss after one-year interdisciplinary treatment in LWL and HWL groups

The <10% (LWL) group showed lower body weight (LWL: -4.2 ± 4.6 kg; HWL: -17.1 ± 5.5 kg, $p < 0.001$) and body fat (LWL: $-4.6 \pm 4.5\%$; HWL: $-10.8 \pm 5.5\%$, $p < 0.05$) variations between baseline and the end of the intervention compared with the HWL (>10%) sample, with a significantly higher FFM delta (LWL: $4.6 \pm 4.5\%$; HWL: $11.8 \pm 8.8\%$, $p < 0.001$).

The delta of α -MSH levels ($p = 0.006$) was significantly lower in the LWL compared with HWL groups. Regarding orexigenic variables, the AgRP ($p < 0.001$) and NPY ($p = 0.004$) variations were significantly higher in the LWL sample. The leptin delta values were significantly higher in group with $\geq 10\%$ weight loss ($p < 0.001$) (Figure 2). The α -MSH/AgRP ($p = 0.01$) ratio and α -MSH/NPY ($p = 0.004$) ratio deltas were significantly lower in the LWL compared with HWL groups (Figure 3).

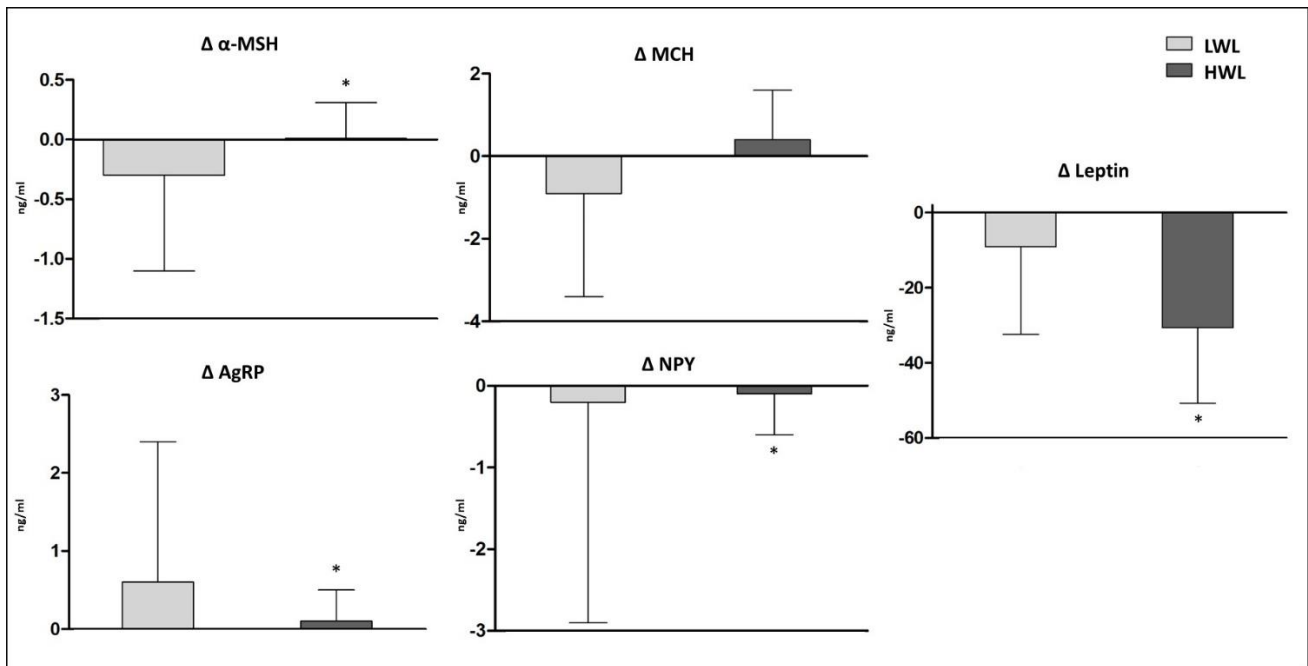


Figure 2. Comparison between deltas of α -MSH, MCH, AgRP, NPY and Leptin by LWL and HWL groups. Data represented by Mean $\pm$ Standard deviation. *significant difference to <10% group. Generalized Linear Model (GLzMM). MCH: Melanin-concentrating hormone; AgRP: agouti-related peptide; NPY: neuropeptide Y; α -MSH: alpha-melanocyte-stimulating hormone. Cutoff to hyperleptinemia state for girls: 24 ng/ml and for boys 20 ng/ml.

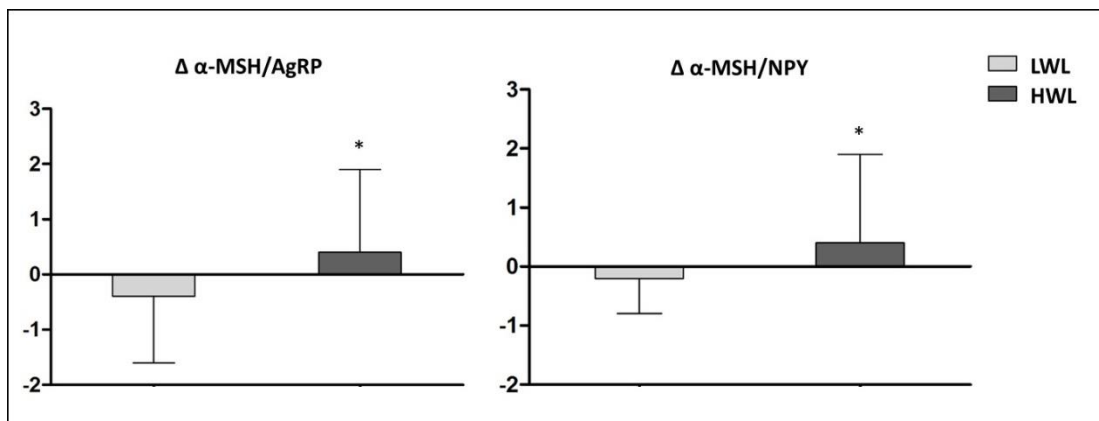


Figure 3. Comparison between deltas of α -MSH/AgRP ratios and α -MSH/NPY ratio by LWL and HWL groups. Data represented by Mean $\pm$ Standard deviation. *significant difference to <10% group. Generalized Linear Model (GLzMM). AgRP: agouti-related peptide; NPY: neuropeptide Y; α -MSH: alpha-melanocyte-stimulating hormone.

Multiple Linear Regression Analyses

Whole sample multiple linear regression analysis was undertaken to investigate energy balance factors and weight loss that influence body fat loss. The analyses showed that behavior of some energy balance variables, represent by delta

values of α -MSH and leptin and delta of body weight, can explain the body fat loss (Table 2).

Table 2. Linear multiple regression for determinants of change in the body fat (%) in the entire group.

	β coefficient		<i>P</i>	Confidence interval 95.0 %	
				Lower Limit	Upper Limit
Δ Body weight (kg)	0.48	5.89	<0.001*	0.19	0.39
Δ α -MSH (ng/ml)	-0.28	-3.70	<0.001*	-2.66	-0.80
Δ Leptin (ng/ml)	0.30	3.57	<0.001*	0.03	0.09

As a product of multiple linear regression, an equation was generated to try to explain numerically the influence of Δ body weight, Δ α -MSH and Δ leptin in percentage of body fat modulation:

$$Y = -14.01 + (0.28 \times \Delta \text{ Body weight}) + (-1.72 \times \Delta \alpha\text{-MSH}) + (0.06 \times \Delta \text{ Leptin})$$

The equation presents the values of each variable X were attributed, showing that the variation of 1 unit of Δ body weight and Δ leptin resulted in an increase of 0.28 and 0.06 of body fat mass percentage and variation of 1 unit of Δ α -MSH decrease 1.72 of body fat mass percentage.

4. Discussion

While decreased body weight is the main objective of interdisciplinary weight-loss interventions, there is a clear need to better identify and optimize their effects on the physiological pathways regulating energy balance in order to maintain their benefits over the long term. In that context, the present study questioned the

effects of such an intervention on the main adipocytokines and appetite-regulating hormones, depending on the degree of weight loss, in adolescents with obesity. According to our results, a weight loss $\geq 10\%$ of the adolescents' initial body weight favors a significant decrease in leptin concentrations almost reaching normal physiological values by the end of the intervention. Similarly, a decrease in the delta of orexigenic factors NPY and AgRP and an increase in the delta of α -MSH levels were observed in the HWL group, while, on the opposite, a significant reduction in α -MSH and increase in AgRP levels, being respectively anorexigenic and orexigenic neuropeptides, were observed in the LWL group only.

Although our results missed to show any differences for body composition at baseline, it is important to note that some of the studied energy balance factors were statistically different between groups. This is of interest since Kravchychyn et al. [8] previously underlined showed the determinant role of high levels of α -MSH at baseline in the down- and up-regulation of orexigenic and anorexigenic variables, respectively. It should be noted that at baseline the different values of α -MSH were not accompanied by different levels of orexigenic neuropeptides (NPY and AgRP) and that after treatment the weight loss was similar between groups (HWL and LWL), suggesting α -MSH as an independent factor in weight loss therapy. In the present study, we observed that when the individuals were separated into two groups according to magnitude of weight loss following the intervention, the orexigenic and anorexigenic neuropeptide levels were different between groups at baseline but with hyperleptinemia occurring in both groups.

It was observed that with a weight loss $< 10\%$ there was greater instability in the orexigenic and anorexigenic factors related to appetite than in the group with $\geq 10\%$ weight loss, who had a more significant variation post treatment compared to

baseline. The levels of α -MSH declined after treatment and AgRP levels were higher compared to baseline in the LWL group, a result not favorable to serum stabilization of these hormones. In contrast, in the HWL group there was only a slight variation in these variables accompanying the reduction in leptin levels, suggesting that the control of neuroendocrine factors promotes their stability. Importantly, it must be noted that leptin concentrations were different at baseline and hyperleptinemia was present in both groups; however, unlike in the HWL group, levels of leptin in the LWL group were not close to normal by the end of the program, reinforcing the key role of this hormone in the long-term regulation of the whole energy balance and homeostasis (Figure 4).

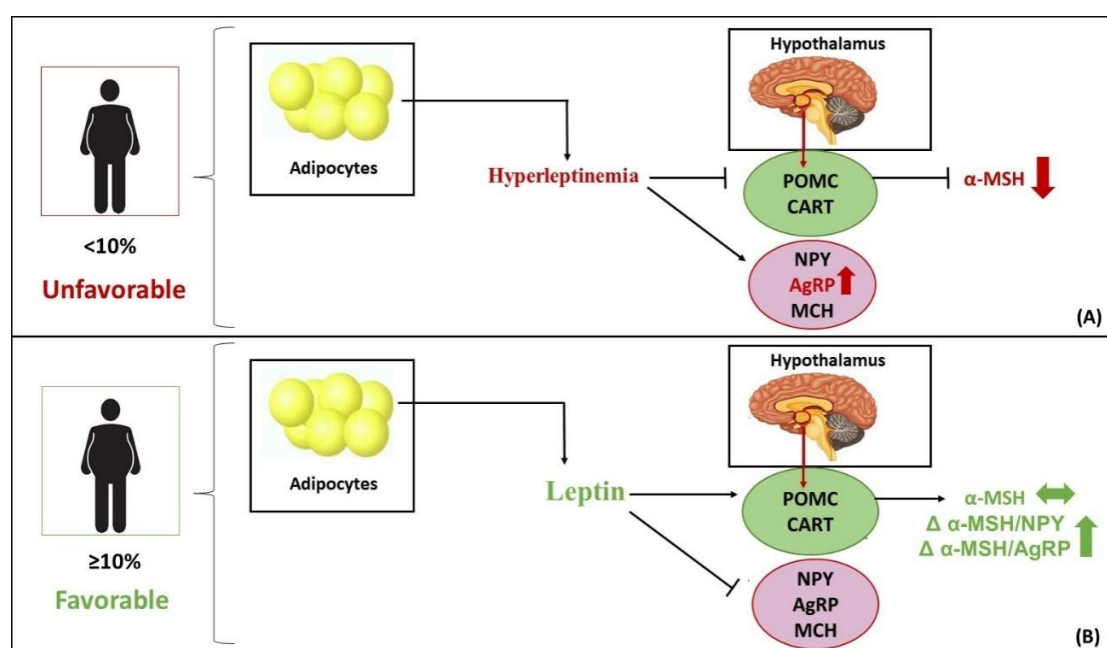


Figure 4. (A) Neuropeptides concentrations associated to hyperleptinemia state causing the unfavorable energy balance control to homeostasis in adolescents with weight loss lower than 10% post treatment. (B) Neuropeptides concentrations associated to leptin medium levels causing the favorable energy balance control to homeostasis in adolescents with weight similar or higher than 10% post treatment.

The antagonism between AgRP/NPY and α -MSH is well described in the literature. This is orchestrated by the hormones ghrelin and leptin signaling the arcuate nucleus (ARC) and promoting orexigenic and anorexigenic responses,

respectively [6,23]. The role of leptin as a mediator of the long-term regulation of energy balance, suppressing food intake and thereby inducing weight loss seems to be clear in both groups. When hyperleptinemia was reversed in the HWL group, the concentrations of AgPR, NPY and α -MSH and the changes in these levels promoted by the treatment (Δ) showed a physiology closer to that expected to a normal signs of hunger and satiety.

In fact, hyperleptinemia is commonly observed in adolescents with obesity, Foschini and collaborators [24] observed a prevalence of about 26% of this state in a similar population. It is also a predictor of significant low α -MSH, which increased only after substantial weight loss, corroborating our present data [24].

Our results reinforce the relationship between leptin and the control of energy balance recently reported by Corgosinho et al. [5], with the suggestion that leptin receptor polymorphism affects the neuroendocrine regulation of energy balance among adolescents with obesity. The C-allele carriers also presented hyperleptinemia and statistically higher levels of orexigenic neuropeptides, including NPY, AgRP and MCH, leading to impairment in the weight loss.

This study also aimed to investigate which adipocytokines and hormones that affect appetite can influence body fat loss responses. As far as we know, this is the first study to demonstrate that variations in both α -MSH, leptin and body weight, can influence the reduction of body fat in adolescents with obesity. These results reinforce the importance of these energy balance factor variations in modulating the clinical prognosis of the control of body fat. This supports the idea that ideally BMI measurement should be accompanied by fat measures because of the strong association between body fat percentage and comorbidities of obesity, such as insulin resistance and cardiovascular diseases [2].

The numerical model developed in this study and described above can express the process of neuroendocrine axis normalization with weight loss and body fat loss. A positive β coefficient to the delta of weight and leptin involves a proportional relationship between the variables. It is expected that a person in the process of weight loss will reduce her percentage of body fat and down-regulate leptin levels to promote hypothalamus response sensitivity. On the other hand, a negative β coefficient of the delta of α -MSH suggests an inverse ratio with body fat loss. As the percentage of fat decreases, the anorexigenic pathways respond to leptin signals and control antagonistic signals to the orexigenic pathways.

The inverse relationship found between α -MSH and body fat can be elucidated not only for the leptin sensibility in the hypothalamus and anorexigenic effects. Alpha-MSH affects the adipose physiology and plays role in thermal regulation and improvements of energy expenditure [25,26,27]. In animals and humans, obesity can be associated with mutations in POMC and MC4R (melanocortin-4 receptor) reflecting the alterations in adiposity present without stimulating the anorexigenic pathways [28,29].

The results of the present work must be considered in light of some limitations. First, subdividing our sample into two subgroups by the end of the intervention reduces the sample size. Additional key variables would have been interesting and important to measure such as basal metabolic rate or food consumption (quantitative and qualitative) for instance. Including a lean control group would have also been interesting. These methodological limitations call for further studies.

5. Conclusion

The weight loss degree generated by an interdisciplinary therapy was associated with the serum responses of Leptin, α -MSH, NPY and AgRP, hormones involved in energy balance that influence the control of hunger and satiety in adolescents with obesity. Therefore, weight loss of less than 10% of initial body weight seems to be unfavorable to a reversal of hyperleptinemia state and stabilization of the main serum anorexigenic and orexigenic neuropeptides which can result in the weight cycling effect. In addition, we were able to produce a prognostic mathematical model applicable in clinical practice to forecast possible body fat loss using body weight, leptin and α -MSH variations.

Conflict of Interest

None Disclosed

Acknowledgements

São Paulo Research Support Foundation - FAPESP (Number: 2017/07372-1; 2015/14309-9; 2013/08522-6; 2011/50414-0; 2011/50356-0; 2008/53069-0), National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (Number: 301322/2017-1) and Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel – CAPES.

References

[1] World Health Organization (2018) Obesity and Overweight Fact Sheet [internet]. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Accessed 28 August 2019

- [2] Andolfi C, Fisichella, M (2018) Epidemiology of obesity and associated comorbidities. *J. Laparoendoscopic Adv Surg Tech* 8:919-924. <https://doi:10.1089/lap.2018.0380>.
- [3] Villarroya F, Cereijo R, Gavalda-Navarro A, Villarroya J, Gitalt M (2018) Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *J Intern Med.* 284:492-504. <https://doi:10.1111/joim.12803>.
- [4] Zolotarjova J, Velde G, Vreugdenhil, ACE (2018) Effects of multidisciplinary interventions on weight loss and health outcomes in children and adolescents with morbid obesity. *Obes Rev.* 19:931-946. <https://doi:10.1111/obr.12680>.
- [5] Corgosinho FC, Almeida SS, Tock, L, Pesquero JB, Araújo RC, Clemente APG et al (2017) LEPR polymorphism may affect energy balance during weight loss among Brazilians obese adolescents. *Neuropeptides.* 66:18-24. <https://doi:10.1016/j.npep.2017.07.007>.
- [6] Vehapoğlu A, Türkmen S, Terzioğlu Ş (2016) Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone and Agouti-Related Protein: Do They Play a Role in Appetite Regulation in Childhood Obesity? *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 8:40-47. <https://doi:10.4274/jcrpe.2136>.
- [7] Hopkins M, Blundell J, Halford J, King N (2000) The Regulation of Food Intake in Humans. [Updated 2016 Mar 30]. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278931/> Accessed 3 July 2019.
- [8] Kravchychyn ACP, Campos RMDS, Corgosinho FC, Masquio DCL, Vicente SECF, Ferreira YAM et al (2018). The Long-Term Impact of High Levels of Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone in Energy Balance Among Obese Adolescents. *Ann Nutr Metab.* 72:279-286. <https://doi:10.1159/000488005>.
- [9] Masquio DC, de Piano A, Campos RM, Sanches PL, Carnier J, Corgosinho FC et al (2015). The role of multicomponent therapy in the metabolic syndrome, inflammation and cardiovascular risk in obese adolescents. *Br J Nutr.* 113:1920-30. <https://doi:10.1017/S0007114515001129>.
- [10] Dâmaso AR, de Piano A, Campos RM, Corgosinho FC, Siegfried W, Caranti DA et al (2013) Multidisciplinary approach to the treatment of obese adolescents: effects on cardiovascular risk factors, inflammatory profile, and neuroendocrine regulation of energy balance. *Int J Endocrinol* 541032. <https://doi:10.1155/2013/541032>.
- [11] King NA, Hopkins M, Caudwell P, Stubbs RJ, Blundell JE (2008) Individual variability following 12 weeks of supervised exercise: identification and characterization of compensation for exercise-induced weight loss. *Int J Obes.* 32:177-184. <https://doi:10.1038/sj.ijo.0803712>.
- [12] King NA, Horner K, Hills AP, Byrne NM, Wood RE, Bryant E et al (2012) Exercise, appetite and weight management: understanding the compensatory

responses in eating behavior and how they contribute to variability in exercise-induced weight loss. *Br J Sports Med.* 46:315-322. <https://doi:10.1136/bjsm.2010.082495>.

[13] Shipp SL, Cline MA, Gilbert ER (2016) Recent advances in the understanding of how neuropeptide Y and α -melanocyte stimulating hormone function in adipose physiology. *Adipocyte.* 5:333-350. <https://doi:10.1080/21623945.2016.1208867>.

[14] Fuqua JS, Rogol AD (2013) Neuroendocrine alterations in the exercising human: implications for energy homeostasis. *Metabolism.* 62:911-921. <https://doi:10.1016/j.metabol.2013.01.016>.

[15] Oyama LM, do Nascimento CM, Carnier J, de Piano A, Tock, L, Sanches, PL et al (2010) The role of anorexigenic and orexigenic neuropeptides and peripheral signals on quartiles of weight loss in obese adolescents. *Neuropeptides.* 44:467-474. <https://doi:10.1016/j.npep.2010.07.002>.

[16] Gregg EW, Jakicic JM, Blackburn G, Bloomquist P, Bray GA, Clark JM et al (2016) Association of the magnitude of weight loss and changes in physical fitness with long-term cardiovascular disease outcomes in overweight or obese people with type 2 diabetes: a post-hoc analysis of the Look AHEAD randomized clinical trial. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 4:913-921. [https://doi:10.1016/S2213-8587\(16\)30162-0](https://doi:10.1016/S2213-8587(16)30162-0).

[17] Masquio DC, de Piano A, Sanches PL, Corgosinho FC, Campos RM, Carnier J et al (2013). The effect of weight loss magnitude on pro-/anti-inflammatory adipokines and carotid intima-media thickness in obese adolescents engaged in interdisciplinary weight loss therapy. *Clin Endocrinol.* 79:55-64. <https://doi:10.1111/j.1365-2265.2012.04504.x>.

[18] Wing RR., Lang W, Wadden TA, Safford M, Knowler WC, Bertoni AG (2011) Benefits of modest weight loss in improving cardiovascular risk factors in overweight and obese individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 34:1481-6. <https://doi:10.2337/dc10-2415>.

[19] Tanner JM, Whitehouse RH (1976) Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child.* 51:170-179. <https://doi:10.1136/ad.51.3.170>.

[20] Gutin B, Ramsey L, Barbeau P, Cannady W, Ferguson M, Litaker M et al (1999) Plasma leptin concentrations in obese children: changes during 4-mo periods with and without physical training. *Am J Clin Nutr* 69:388–394. <https://doi:10.1093/ajcn/69.3.388>.

[21] NCR (2001) Dietary Reference Intake: Applications in Dietary Assessment. Washington DC: National Academic Press.

[22] Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK (2009) American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for

adults. Med Sci Sports Exerc. 41:459-471. <https://doi:10.1249/MSS.0b013e3181949333>.

[23] Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML (2007). The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev.* 8:21-34. [https://doi: 10.1111/j.1467-789X.2006.00270.x](https://doi:10.1111/j.1467-789X.2006.00270.x).

[24] Foschini D, Santos RV, Prado WL, de Piano A, Lofrano MC, Martins AC, Carnier J et al (2008) Platelet and leptin in obese adolescents. *J Pediatr.* 84:516-521. [https://doi: 10.2223/JPED.1845](https://doi:10.2223/JPED.1845).

[25] Rostás I, Füredi N, Tenk J, Mikó A, Solymár M, Soós S, Székely M (2015) Age-related alterations in the central thermoregulatory responsiveness to alpha-MSH. *J Therm Biol.* 49-50:9-15. [https://doi: 10.1016/j.jtherbio.2015.01.004](https://doi:10.1016/j.jtherbio.2015.01.004).

[26] Joly-Amado A, Cansell C, Denis RG, Delbes AS, Castel J, Martinez S et al (2014) The hypothalamic arcuate nucleus and the control of peripheral substrates. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 28:725-737. <https://doi:10.1016/j.beem.2014.03.003>.

[27] Richard D, Monge-Roffarello B, Chechi K, Labbé SM, Turcotte EE (2012) Control and physiological determinants of sympathetically mediated brown adipose tissue thermogenesis. *Front Endocrinol.* 27:1-8. <https://doi:10.3389/fendo.2012.00036>.

[28] De Jonghe BC, Hayes MR, Bence KK (2011) Melanocortin control of energy balance: evidence from rodent models. *Cell Mol Life Sci.* 68:2569-2588. <https://doi:10.1007/s00018-011-0707-5>.

[29] Lubrano-Berthelier C, Cavazos M, Dubern B, Shapiro A, Stunff CL, Zhang S, Picart F et al (2003) Molecular genetics of human obesity-associated MC4R mutations. *Ann NY Acad Sci.* 994:49-57. <https://doi:10.1111/j.1749-6632.2003.tb03161.x>

Artigo 3

6.3 Artigo 3

The association between Dietary Inflammatory Index scores and serum concentrations of adipocytokines and hormones that affect appetite in adolescents with obesity engaged in long-term interdisciplinary therapy

Ana Claudia Pelissari Kravchychyn¹, Raquel Munhoz da Silveira Campos², Yasmin Alaby Martins Ferreira¹, Luciana Oliveira e Silva³, Flávia Campos Corgosinho⁴, Deborah Cristina Landi Masquio⁵, Lila Missae Oyama¹, Lian Tock¹, Marco Túlio de Mello⁶, Sérgio Tufik³, David Thivel⁷, Nitin Shivappa^{8,9,10}, James R. Hébert^{8,9,10}, Ana Raimunda Dâmaso¹

¹Programa de Pós Graduação em Nutrição Post, Universidade Federal de São Paulo, Campus São Paulo, São Paulo, Brazil; ² Departamento de Biociências, Universidade Federal de São Paulo, Campus Baixada Santista, Santos - SP, Brazil; Programa de Pós Graduação Interdisciplinar em Ciências da Saúde, Universidade Federal de São Paulo, Campus Baixada Santista, Santos - SP, Brazil; ³Programa de Pós Graduação em Psicobiologia, Universidade Federal de São Paulo, Campus São Paulo, São Paulo, Brazil; ⁴Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brazil, ⁵ Centro Universitário São Camilo; São Paulo, Brazil, ⁶Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, ⁷Clermont Auvergne University, CRNH Auvergne, France; ⁸Cancer Prevention and Control Program, University of South Carolina, Columbia, SC, United States, ⁹Department of Epidemiology and Biostatistics, Arnold School of Public Health, University of South Carolina, Columbia, SC, United States, ¹⁰Connecting Health Innovations LLC (CHI), Columbia, SC, United States.

Corresponding authors:

Ana Claudia Pelissari Kravchychyn. MSc. & Ana R. Dâmaso. PhD.

Post-Graduation Program of Nutrition. Paulista Medicine School – Universidade Federal de São Paulo. Rua Botucatu, 862 – Vila Clementino - São Paulo/ SP – Postal Code: 04024-002 Phone/FAX: (5511) Tel: (+55) 11 5576-4848. Brazil.
email: anapelissari@hotmail.com / ana.damaso@unifesp.br

Key words: Obesity, Energy Balance, Weight Loss, Interdisciplinary Therapy, Adolescents

Acknowledgements

Support Foundation of São Paulo Research - FAPESP (2017/07372-1; 2015/14309-9; 2013/08522-6; 2011/50414-0; 2011/50356-0; 2008/53069-0), National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (301322/2017-1) and Coordination of Higher Education Personnel Training – CAPES.

Abstract

Purpose: The aim of the present study was to analyze the association between Dietary Inflammatory Index (E-DII) scores and serum concentrations of adipocytokines and hormones that affect appetite in adolescents with obesity engaged in long-term interdisciplinary therapy. **Methods:** Fifty post-pubertal adolescents with obesity of both genders aged 14 to 19 years old were classified according to whether there was an increase ($> E-DII$; $n=30$) or decrease ($< E-DII$; $n=20$) in their E-DII scores after one year of interdisciplinary weight loss therapy (comprising medical screening, nutrition advice, psychological support, physical education and physiotherapy). The 3-day dietary nonconsecutive record was applied to estimate energy, macro and micronutrient intake and calculate the DII scores. At baseline and post intervention body composition and plasma levels of leptin, adiponectin and neuropeptides (α MSH, MCH, NPY and AgRP) were measured. Significance was set as $p<0.05$. **Results:** In both groups we observed reductions in body weight and body fat and improvements in FFM. Leptin levels were reduced in both groups while adiponectin values increased only in the $<E-DII$ group. Serum neuropeptides levels, anorexigenic and orexigenic ratios did not change after treatment in the $>E-DII$ group, but to $<E-DII$ group there was a significant reduction in α MSH, MCH and NPY levels and an increase in the anorexigenic ratio α MSH/NPY. A negative correlation was found between $\Delta SFAs$ with $\Delta \alpha$ MSH/AgRP (All: $r=-0.35$; $p=0.01$; $<E-DII$: $r=-0.40$; $p=0.03$), $\Delta NPY/AgRP$ and $\Delta MUFA$ s (All: $r=-0.33$; $p=0.01$; $<E-DII$: $r=-0.43$; $p=0.02$) and $PUFA$ s (All: $r=-0.31$; $p=0.02$; $<E-DII$: $r=-0.37$; $p=0.04$). **Conclusion:** In the group who had a decreased E-DII score after long-term interdisciplinary weight loss therapy, there was also a decrease in orexigenic neuropeptides and an increase in the anorexigenic ratio, resulting in a more favorable scenario for controlling weight and food intake, as well as an improvement in the proinflammatory state.

1. Introduction

Socioeconomic, geographical, political, and technological changes over recent decades have resulted in changes in work patterns, leisure and physical activities, and the relationship of the population with food. These factors have contributed to changes to the morbidity and mortality profile in many countries, characterized by demographic, epidemiological and nutritional transitions (WHO, 2015). One of the consequences of these changes is obesity, which is among the top five global mortality risks, and has an alarming and rising prevalence (Maffetone et al., 2017).

The main symptom of obesity is increased adipose tissue. It was until relatively recently thought that this tissue was just an energy store. However, it is now known that adipose tissue is a secretory organ able to synthesize and secrete a large number of factors collectively known as adipokines. These control energy balance processes, insulin sensitivity, angiogenesis, vascular protection, blood pressure regulation and coagulation, besides expressing receptors that respond to afferent signals of hormones and the central nervous system (Fuqua and Rogol, 2013; Morton et al., 2013; Dâmaso 2009). Among these adipokines, leptin (LEP) influences the hypothalamic signs of satiety and energy balance modulation. This hormone stimulates the anorexigenic pathways through the central production of cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART) and pro-opiomelanocortin (POMC), the main precursor of alpha-melanocyte stimulating hormone (α -MSH). In an antagonistic way, LEP inhibits orexigenic pathway expression, responsible for the sensation of increased hunger, represented by Neuropeptide Y (NPY) and Agouti-Related Protein (AgRP). Therefore, LEP can reduce food intake, increase energy expenditure and control glucose and fat metabolism (Bischoff et al., 2012; Vendrell et al., 2004).

In individuals with obesity, higher serum LEP concentrations can generate hypothalamic resistance to the appetite controlling action of this hormone, characterized by a state of hyperleptinemia and an increased inflammatory response (Sanches et al., 2014b; Dâmaso et al., 2011). In addition, the intake of processed foods and saturated fats has an important role in the genesis of obesity, generating hypothalamic inflammation and consequently decreasing the hypothalamus's positive response to LEP and to satiety signals (Milanski et al., 2009). Studies indicate that hyperlipidic diets may be responsible for triggering mechanisms involved in the inflammatory process in the hypothalamus (Dragano et al., 2017; Hotamisligil, 2010; Milanski et al., 2009). Inversely, adiponectin, another adipokine whose concentration is inversely correlated with the proportion of fat mass, has been described as an anti-inflammatory actor that can be modulated by the quality of an individual's diet. Unfortunately, obesity, metabolic syndrome (MetS) and hyperleptinemia lead to a reduction in this hormone (Masquio et al., 2015; Dâmaso et al., 2011).

In Brazil, data from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE) show that there has been an increase in overweight and obesity, which has been associated with an increase in calorie intake from the growing consumption of processed foods, soda drinks, cookies and sausages, in addition to greater sedentary behavior, reaching about 45.9%, and especially common in adolescents (IBGE, 2010).

The analysis of food intake quality is, therefore, important, because specific components in the diet can modulate inflammation and oxidative stress, altering the adipokine expression that influences energy balance factors and thus, through their pathophysiology, favors the development of components involved in the genesis of obesity. In this context, new tools for analyzing the quality and quantity of food

intake have emerged, such as the Dietary Inflammatory Index (DII) (Shivappa et al., 2017a; Shivappa et al., 2014).

The aim of the present study was, therefore, to analyze the association between DII and serum concentrations of adipocytokines and hormones that affect appetite in adolescents with obesity engaged in a long-term interdisciplinary therapy.

2. Materials and Methods

2.1 Population

A total of 148 adolescents with obesity were submitted to an interdisciplinary therapy program that comprised clinical assessment, nutritional advice, physical activity, physiotherapy and psychological support for one year. The volunteers were of both genders and aged between 14 and 19 years old. The inclusion criteria were: being stage five according to Tanner's classification (Tanner and Whitehouse 1976); and having a BMI > 97th percentile of the WHO reference growth charts. Non-inclusion criteria were: the use of birth control pills, cortisone, anti-epileptic drugs, and a history of renal disease, alcohol intake, smoking, and secondary obesity due to endocrine disorders.

Only 108 of the adolescents completed the treatment program, the main reasons for dropping out being financial and family problems, followed by school and job opportunities. After therapy, only 50 adolescents could be classified using the Dietary Inflammatory Index (E-DII) due to failures in keeping a 3-day nonconsecutive dietary record. Data were collected between 2010 and 2012.

The protocol was approved by the Ethics Committee on Research at the Universidade Federal de Sao Paulo-UNIFESP/Escola Paulista de Medicina (#0135/04), registered Clinical Trials: NCT01358773 and conducted according to the

principles of the Declaration of Helsinki. The volunteers or their legal representative signed the written consent form and received all necessary information about the study.

2.2 Study protocol

Initially, the inclusion criteria were verified by an endocrinologist and the anamnesis was applied by the researchers to ensure the ability of the participants to complete the whole study. Post initial selection, the adolescents underwent an electrocardiogram, body composition analysis, blood analysis and then started the interdisciplinary therapy which included clinical assessment, nutritional advice, psychological support, physiotherapy and exercise training. After completing 1 year of therapy, the volunteers repeated the initial clinical evaluations and were divided in groups according to whether they had an increase or decrease in their DII score (Figure 1).

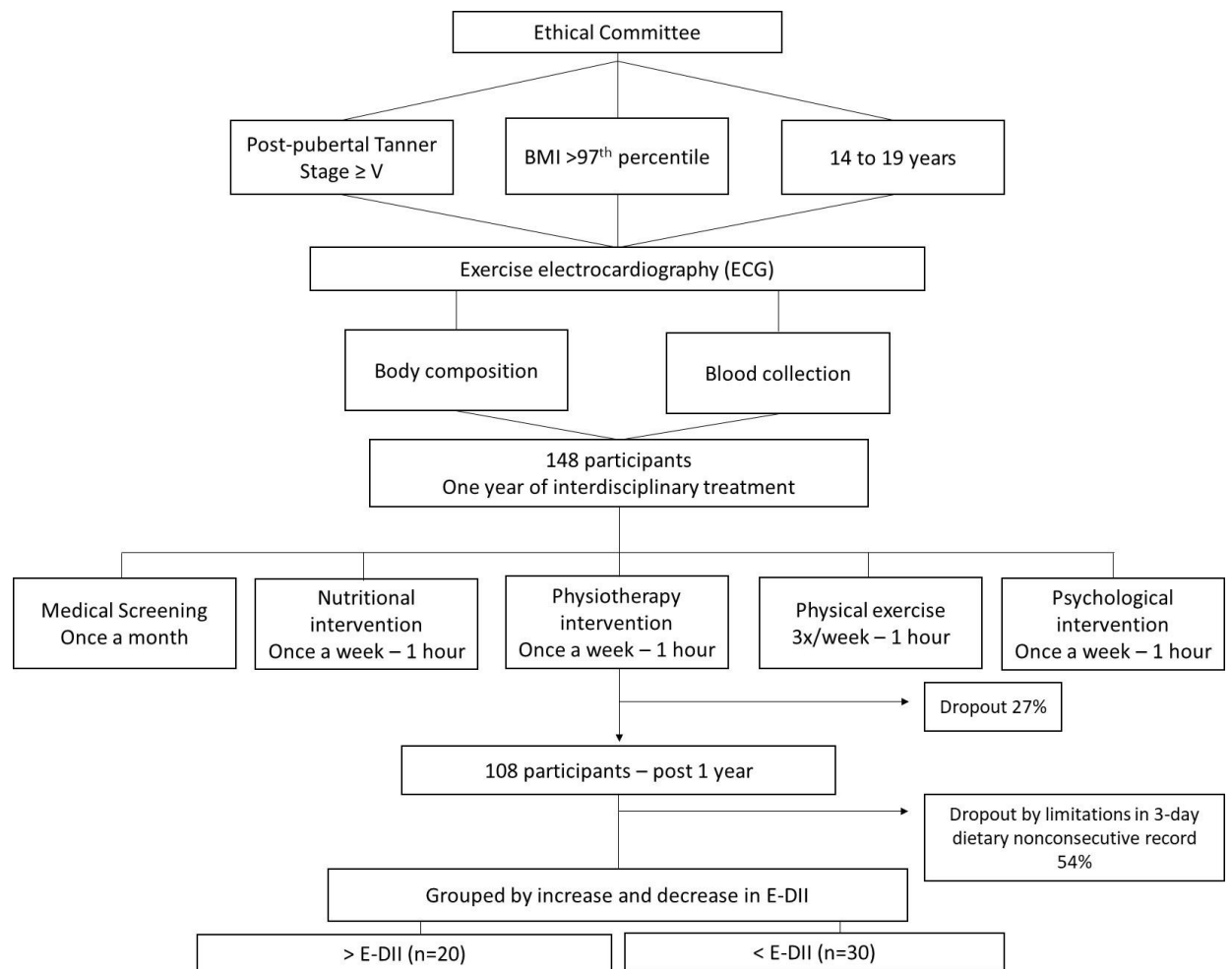


Figure 1. Design of study

Anthropometric Measurements and Body Composition

Weight (Filizola[®] scale to the nearest 0.1 kg) and height (Sanny[®], model ES 2030 to the nearest 0.5 cm) were measured and the body mass index (Body weight (kg) / height (m)²) was calculated. Air displacement plethysmography in a BOD POD[®] body composition system (version 1.69; Life Measurement Instruments, Concord, CA) was used to generate the body composition variables: body fat (BF) and free fat mass (FFM).

Blood Serum Analysis

After a 12-hour overnight fast, blood samples were collected to determine leptin, adiponectin, serum neuropeptides: alpha-melanocyte stimulating hormone (α -MSH), melanin-concentrating hormone (MCH), agouti-related protein (AgRP) and neuropeptide Y (NPY). The anorexigenic ratios α -MSH/NPY and α -MSH/AgRP, and the orexigenic ratio NPY/AgRP were calculated after the analyses. These blood sample were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit from R&D Systems (Minneapolis, MN, USA). Inter and intra assay %CV were 12.0% and 3.1% for α -MSH, 19.0% and 2.7% for NPY, 18.1% and 4.6% for AgRP, and 21.9% and 2.8% for MCH, respectively.

2.3 Interdisciplinary therapy

Clinical approach

General health and clinical indicators were monitored at least once per month by an endocrinologist. The medical screening consisted of physical examination to determine whether the individual met the inclusion and exclusion criteria, family history and interventions in any comorbidities of obesity.

Nutritional Therapy

The nutritional therapy was conducted by individual assessment and the nutritional education by group session. Once a week, the adolescents received nutritional lessons with main topics such as the characteristics of nutrients, diet and light foods, weight loss diets, choices to eat on holidays, weekends and celebrations, food labels and other topics related to obesity and daily eating behavior. Once a

month, in the individual sessions, the distribution of macronutrients was fat (25-35%), carbohydrate (45-65%) and protein (10-30%) and a hypocaloric diet was prescribed according to age and gender, reducing caloric intake by between 300 and 500kcal/day (NCR, 2001). No pharmacotherapies, supplementation or antioxidants were prescribed for all volunteers.

At baseline and after therapy, the 3-day dietary nonconsecutive record was applied to estimate energy, fiber, macro and micronutrient intake and glycemic load. After therapy, the DIETSMART[®] program was used to analyze dietary intake and establish nutrient intake to calculate the Dietary Inflammatory Index per 4,184 kJ (1000 kcal) (E-DII) of food consumed (Shivappa et al., 2017a). Lower values indicate an anti-inflammatory diet and higher values represent a pro-inflammatory diet (Shivappa et al., 2014). Twenty-four nutrients were used to calculate the E-DII score: carbohydrate, protein, cholesterol, saturated fat (SFAs), mono-unsaturated fat (MUFAs), poly-unsaturated fat (PUFAs), omega3, omega6, fiber, niacin, thiamin, riboflavin, vitamins (A, B12, B6, C, D, E), iron, magnesium, zinc, selenium, folic acid, and beta-carotene.

Psychological Therapy

Collective psychological sessions were organized once a week covering obesity-related topics such as depression, eating disorders, anxiety, decreased self-esteem, and body-image disorders. Individual sessions were given when needed.

Exercise Protocol

The exercise program was performed three times per week and included 30 minutes of aerobic training plus 30 minutes of resistance training per session, in

accordance with the American College of Sports Medicine guidelines (Donnelly et al., 2009).

The aerobic training consisted of walking/running on a motor-driven treadmill (LifefitnessTM - Belmont Avenue; Franklin Park, IL, USA) or cycling at a cardiac frequency intensity between ventilatory threshold 1 and 2 (± 4 bpm), according to the results of an initial oxygen uptake test for aerobic exercise. Resistance training was prescribed to main muscle groups and the load of exercise was adjusted after two weeks for adaptation to the movement and minimum initial load. The load was adjusted each eight weeks. The inverse proportion between volume and intensity was applied on three different days per week, with the number of repetitions being decreased (20 to 15, 12 to 10 and 8 to 6) and the load increased. The volunteers performed three sets for all muscle groups. The subjects were instructed to reverse the order of the exercises (aerobic and resistance) at each training session and all sessions were rigorously supervised by an experienced physiologist.

Physiotherapy

The physiotherapy therapy was conducted by a certified physical therapist in group weekly sessions dealing with global postural reeducation, isostretching, diaphragmatic breathing, hydrotherapy, balance, and stretching. If the patient had any injuries, individual assessments were also performed.

2.4 Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using STATISTICA software version 7.0 for Windows. Data normality was verified with the Kolmogorov–Smirnov test. Parametric data were expressed as mean $\pm$ SD, while variables that did not have a

normal distribution were normalized by z-score. Comparisons between measurements before and after intervention were performed using the General Linear Model for repeated measures. The delta values (Δ) were calculated by ratio between post and baseline variables. The test Generalized Linear Model (GLzMM) was used with Gamma distribution applied to compare absolute delta variables among the groups. The choice of distribution considered was based on parsimony between the exploratory analysis of histograms and the best balance good fit Akaike information criterion (AIC) and Bayesian information criterion (BIC). Pearson's correlation was performed. Significance was set as $p < 0.05$.

3. Results

The weight loss therapy was completed by 50 adolescents who were then grouped according to whether there was an increase ($>$) or decrease ($<$) of E-DII: $<$ E-DII ($n=30$) and $>$ E-DII ($n=20$).

Differences in data at baseline between groups

At baseline, the comparison between groups presented no significant differences regarding anthropometric, body composition variables (weight, BMI, body fat (% and kg) and FFM (% and kg), anorexigenic and orexigenic neuropeptides, anorexigenic ratio α -MSH/NPY and α -MSH/AgRP, and orexigenic ratio NPY/AgRP (Table 1). For initial food intake variables, glycemic load and E-DII, no differences at baseline were found either (Table 2).

Effect of interdisciplinary therapy on the body composition variables for the two groups

Body weight and body fat reduced and FFM increased in the <E-DII and >E-DII groups. However, the BMI presented a reduction only in the <E-DII group.

Effect of interdisciplinary therapy on the energy balance and inflammatory variables for the two groups

In the >E-DII group, there was a reduction in leptin values while the adiponectin levels, serum neuropeptides (α MSH, MCH, NPY and AgRP) and anorexigenic and orexigenic ratio did not change after treatment.

The reduction in leptin levels was also observed in the <E-DII group. Moreover, in this group, increased adiponectin serum values were observed. In respect of serum neuropeptides, there were significant reductions in the values of α MSH, MCH and NPY. Despite the reduction in the values of α MSH, an increase in the anorexigenic ratio α MSH/NPY was found (Table 1). In relation to delta values, there was only a difference in BMI between the groups. In the >E-DII the delta was higher compared to the <E-DII group (Table 1).

Table 1. Descriptive data and comparison of baseline and post-intervention body composition, anorexigenic and orexigenic parameters in the >E-DII and <E-DII groups.

	> E-DII (n=20)			< E-DII (n=30)			Δ
	Baseline	After	P	Baseline	After	P	
Body weight (kg)	103.5±17.4	92.6±16.7 [†]	0.00	101.1±14.9	90.7±13.5 [†]	0.00	0.43
BMI (kg/m²)	34.9±4.2	32.7±4.4	0.10	36.2±5.2	32.1±4.4 [†]	0.00	0.00
Body Fat (%)	43.7±7.2	35.3±9.2 [†]	0.00	46.1±6.5	39.6±7.9 [†]	0.00	0.90
FFM (%)	56.4±7.4	64.6±9.1 [†]	0.00	53.9±6.5	58.4±13.6 [†]	0.01	0.34
MCH (ng/ml)	3.4±1.5	3.5±1.0	0.79	4.7±2.8	3.7±1.1 [†]	0.03	0.29
αMSH (ng/ml)	0.8±0.5	0.8±0.4	0.95	1.2±0.9	0.9±0.5 [†]	0.02	0.86
AgPR (ng/ml)	0.6±0.7	0.6±0.8	0.83	1.2±1.9	1.3±1.7	0.55	0.21
NPY (ng/ml)	1.5±1.9	1.4±1.5	0.71	1.6±1.3	1.1±0.5 [†]	0.00	0.34
Adiponectin (ng/ml)	6.0±7.1	7.4±6.5	0.33	8.3±7.9	10.5±10.2 [†]	0.05	0.81
Leptin (ng/ml)	42.9±21.9	26.5±18.2 [†]	0.00	40.7±16.1	29.8±12.5 [†]	0.00	0.09
αMSH/AgRP ratio	1.9±0.9	1.8±0.7	0.92	1.7±0.9	2.3±4.1	0.34	0.07
αMSH/NPY ratio	0.8±0.8	0.9±1.4	0.67	1.0±0.8	1.4±2.4 [†]	0.05	0.14
NPY/AgRP ratio	3.4±3.2	3.3±2.4	0.94	2.8±2.6	4.3±10.1	0.27	0.63

[†] Difference to baseline compared to after therapy in the same group.

Effect of interdisciplinary therapy on the dietary intake variables and E-DII for the two groups

In both groups, there was a reduction in energy intake, carbohydrates, lipids, saturated, mono and poly fats. There was a reduction in the glycemic load and fiber intake only in the >E-DII group. Although significant differences for fiber consumption before and after the intervention were not found in the <E-DII group, the final consumption values were significantly higher when compared to the final consumption of the > E-DII group. When deltas were compared for these variables,

only protein consumption was different between groups, the delta being higher for the > E-DII group (Table 2).

Table 2. Descriptive data and comparison of baseline and post intervention dietary intake in the >E-DII and <E-DII groups.

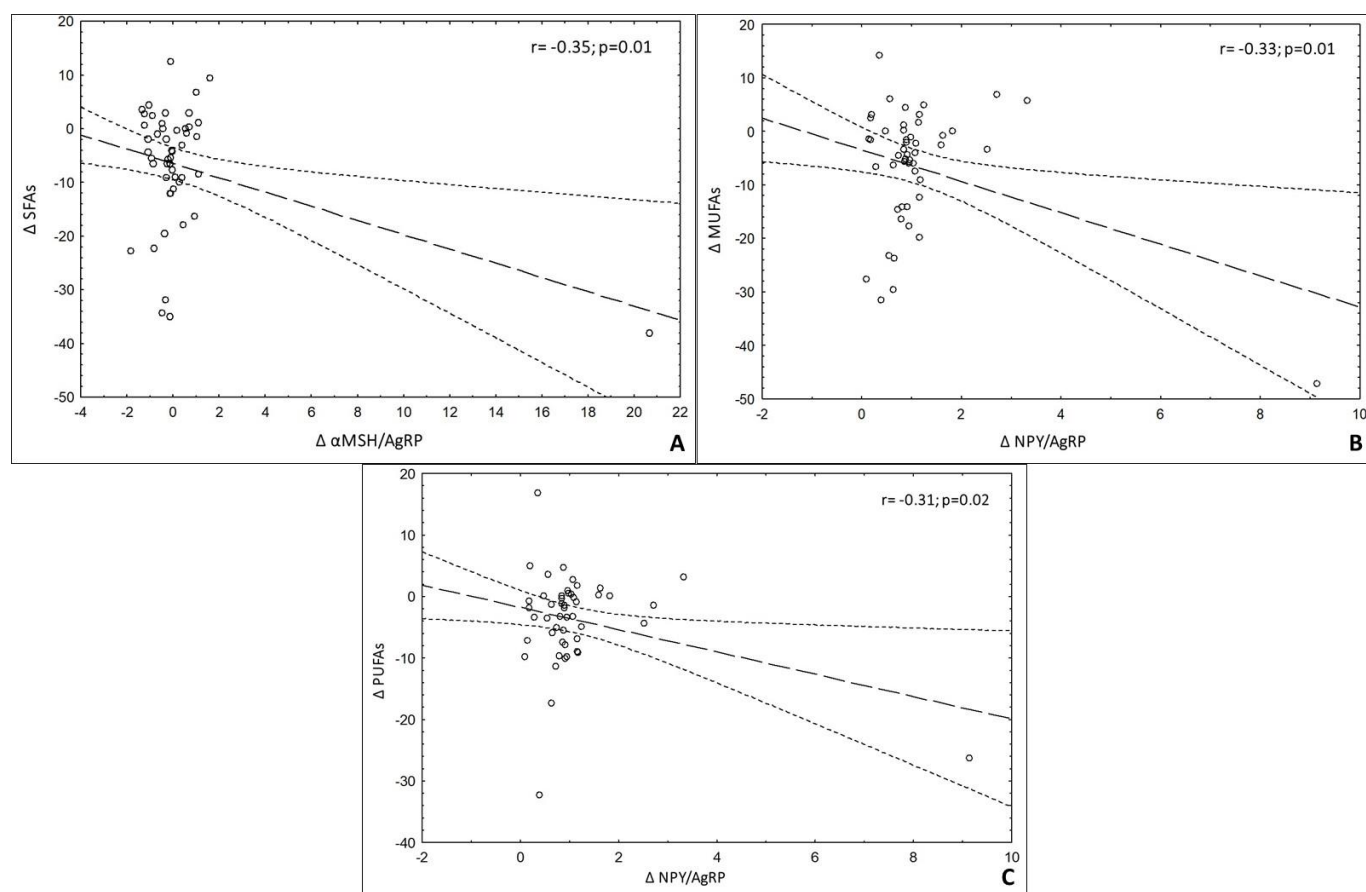
	> E-DII (n=20)			< E-DII (n=30)			Δ
	Baseline	After	P	Baseline	After	P	
Energy Intake (kcal)	1671.3 $\pm$ 504.4	1164.3 $\pm$ 358.5 [†]	0.00	1728.7 $\pm$ 617.7	1214.3 $\pm$ 476.1 [†]	0.00	0.82
Carbohydrate (g)	212.7 $\pm$ 79.2	154.8 $\pm$ 56.9 [†]	0.00	205.1 $\pm$ 61.9	158.2 $\pm$ 48.9 [†]	0.00	0.40
Protein (g)	80.6 $\pm$ 33.5	56.9 $\pm$ 24.4 [†]	0.02	75.9 $\pm$ 38.1	61.4 $\pm$ 33.5	0.09	0.02
Lipids (g)	58.6 $\pm$ 22.7	36.9 $\pm$ 13.8 [†]	0.00	66.5 $\pm$ 33.4	36.9 $\pm$ 22.9 [†]	0.00	0.51
SFAs (g)	16.1 $\pm$ 6.5	11.6 $\pm$ 4.9 [†]	0.05	21.9 $\pm$ 12.3	12.9 $\pm$ 7.8 [†]	0.00	0.58
MUFAs (g)	14.8 $\pm$ 7.9	8.6 $\pm$ 4.2 [†]	0.02	18.1 $\pm$ 11.8	9.9 $\pm$ 7.2 [†]	0.00	0.60
PUFAs (g)	8.6 $\pm$ 4.6	4.3 $\pm$ 2.4 [†]	0.02	11.7 $\pm$ 11.9	7.7 $\pm$ 12.1 [†]	0.01	0.27
Glycemic Load (g)	71.2 $\pm$ 27.2	47.8 $\pm$ 21.9	0.01	60.6 $\pm$ 34.3	49.6 $\pm$ 17.9	0.16	0.39
Fiber (g)	13.9 $\pm$ 6.3	8.9 $\pm$ 5.0	0.01	11.4 $\pm$ 6.4	13.4 $\pm$ 6.2 [‡]	0.21	0.53
E-DII	1.5 $\pm$ 0.9	2.3 $\pm$ 0.9 [†]	0.00	2.8 $\pm$ 1.1	1.0 $\pm$ 1.0 [†]	0.00	0.31

[†]Difference to baseline compared to after therapy in the same group. [‡]Difference after therapy compared to >E-DII group.

Correlations between deltas of fat intake and serum neuropeptides

It was observed that changes (Δ) in fat intake were negatively correlated with orexigenic and anorexigenic ratios for all the sample (Figure 2). The variation in Δ SFAs were negatively correlated with $\Delta\alpha$ MSH/AgRP ($r=-0.35$; $p=0.01$) (Figure 2A). Negative correlations were observed between Δ NPY/AgRP and Δ MUFAs ($r=-0.33$; $p=0.01$) (Figure 2B) and Δ PUFAs ($r=-0.31$; $p=0.02$) (Figure 2C).

Figure 2. Correlations between fat intake and orexigenic and anorexigenic ratios for all the sample.



4. Discussion

The aim of present study was to analyze the association between E-DII scores and serum concentrations of adipocytokines and hormones that affect appetite in adolescents with obesity engaged in a long-term interdisciplinary therapy. Interestingly, an increase in adiponectin levels and a decrease in serum NPY and MCH levels were only found in the group with a decreased E-DII score. In the same group, although the α -MSH levels decreased, the anorexigenic α MSH/NPY ratio was increased.

To our knowledge, this is the first study to relate the variables involved in energy balance with E-DII in adolescents with obesity submitted to interdisciplinary

therapy. We have shown that patients with reduced E-DII scores increased the relationship between anorexigenic and orexigenic variables. This result shows that a reduction in the inflammatory profile of food intake generated a more favorable scenario for the serum energy balance neuropeptides, an important change in relation to reducing energy intake and preventing weight regain post treatment.

It is well established in the literature that increased adiposity alters neuroendocrine control of hunger and satiety. One of the possible mechanisms for this is hypothalamic alteration of responses to the action of LEP, negatively affecting anorexigenic expression of neuropeptides such as α MSH, resulting in the orexigenic pathways (NPY and AgRP) responsible for the sensation of hunger not being efficiently inhibited (Corgosinho et al., 2017; Vehapoğlu et al., 2016; Bischoff et al., 2012).

Interestingly, in our data these changes in energy balance variables were independent of the decrease in LEP; however, there was only a significant increase in adiponectin levels in the group with decreased DII. The modulation of adiponectin is an important strategy to be considered in the obese profile. This biomarker is an anti-inflammatory adipokine that plays an important role in cardiovascular and glucose homeostasis. Adiponectin is an insulin sensitizer that contributes to the delay and/or prevention of insulin resistance and type II diabetes. It also exerts anti-atherosclerotic effects via the inhibition of pro-inflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and the stimulation of anti-inflammatory cytokines (Fuentes et al., 2013; Molica et al., 2015). In fact, in previous studies by our group the data showed that the deregulation in energy balance variables orchestrated by hyperleptinemia can downregulate the adiponectin concentration. This may improve after weight loss therapy reducing the proinflammatory state in adolescents with obesity.

There are few studies of adolescent populations in relation to DII, especially prospective studies. The HELENA study was the first to explore the association between dietary inflammatory potential and low systemic inflammation among European adolescents. The proinflammatory diet characterized by higher DII scores was associated with increased levels of several inflammatory markers: TNF- α , IL-1, IL-2, IFN- γ and vascular cell adhesion molecule, which reinforces the fact that diet as a whole plays an important role in modifying inflammation in adolescents (Shivappa et al., 2017b). Recently, data published by our research group showed that reduced DII scores were associated with reduced cardiometabolic risk in adolescents with obesity post long-term interdisciplinary therapy. The data suggest that an anti-inflammatory diet may be an effective strategy to prevent and treat obesity, metabolic syndrome (MetS) and related comorbidities (Ferreira et al., 2019).

In addition, in the present study there was an important negative correlation between the deltas of the serum neuropeptide ratio and lipid profile intake only in the <E-DII group. This correlation can be explained by the process of hypothalamic inflammation as a possible link between the energy balance and E-DII. Some studies indicate that the consumption of hyper lipid diets may be responsible for the potential mechanisms involved in the inflammatory process in the hypothalamus. It has been reported that the connection between fatty acids and hypothalamic inflammation may be related to toll-like receptor 4 (TLR4) activation and endoplasmic reticulum stress (ERS) (Dragano et al., 2017; Hotamisligil, 2010; Milanski et al., 2009). The TLR4 receptor deletion can protect against the development of insulin and leptin resistance and diet-induced obesity. On the other hand, TLR4 activation seems to be directly linked to local inflammation by recognizing lipopolysaccharides (LPS) (Hotamisligil, 2010; Milanski et al., 2009).

Additionally, a previous study demonstrated that saturated fatty acids activate TLR4 signaling, a process that appears to generate ERS, suggesting that TLR4 is an important mediator of hypothalamic dysfunction associated with the consumption of a SAT fatty acid diet during obesity genesis. Moreover, diets with a high intake of hyperglycemic and trans or saturated fatty foods, including sugary, refined and consequently low-fiber foods, and low consumption of fresh foods such as fruits and vegetables, alter intestinal permeability. This allows gram-negative bacteria and LPS to permeate the gut, which activate the inflammatory cascade and the pathophysiology of obesity (Minihane et al., 2015; Milanski et al., 2009).

In relation to PUFAs, Rogero and Calder (2018) reported in a literature review that omega-3 fatty acids (EPA and DHA) have an anti-inflammatory effect, which involves decreasing the activation of the TLR4 signaling pathway, an inverse action of SFAs. The poly fatty acids have important implications for anti-inflammatory factors, being positive for decreased insulin resistance and the risk of type II diabetes and cardiovascular disease in obese people. In this context, our data showed an important inverse correlation between orexigenic ratios and the consumption of unsaturated fats and may be an important step towards the beginning of a more detailed investigation.

For nearly a decade, studies have shown that E-DII has an important influence on various diseases such as cancer and cardiometabolic disturbance (Fowler and Akinyemiju, 2017; Shivappa et al., 2017a; Ruiz-Canela, Bes-Rastrollo and Martínez-González, 2016; Neufcourt et al., 2015). Shivappa et al. (2017a) showed in a meta-analysis that individuals classified in the high E-DII category have a 40% increased overall risk of developing colorectal cancer. Ruiz-Canela, Bes-Rastrollo and Martínez-González (2016) showed that the use of E-DII may be a recommended

approach to understand the relationship between diet, inflammation and cardiometabolic diseases. The authors discuss consistent studies that showed direct associations between E-DII and a higher risk of developing cardiovascular disease, MetS, and overall mortality.

In this context, the SU.VI.MAX study by Neufcourt et al. (2015) that tracked 3726 participants for 12.4 years found that the odds for developing MetS were 39% higher for participants on a pro-inflammatory diet compared with participants on an anti-inflammatory diet.

The present study had some limitations such as the significant sample loss due to the failure of many of the participants to complete the food diaries, the lack of a lean control group; and the fact that the Brazilian database does not contain all 45 food parameters to properly calculate the E-DII. However, our data have an important practical application because we were able to verify the association between variables that are difficult to assess in clinical practice, such as the neuropeptides involved in energy balance, and it should prove to be a promising instrument for health professionals.

5. Conclusion

In conclusion, in the group that had a decreased Dietary Inflammatory Index after long-term interdisciplinary weight loss therapy, there was also a decrease in orexigenic neuropeptides and an increase in the anorexigenic ratio, characterizing a more favorable scenario for weight control and food intake, as well as improvement in the proinflammatory state. In addition, for the first time, orexigenic and anorexigenic ratios were correlated with a variation in the consumption of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fats, showing a possible relationship between

patterns of food intake, inflammatory adipokines and the neuroendocrine regulation of energy balance.

Conflict of Interest

None Disclosed

References

Bischoff, S.C., Damms-Machado, A., Betz, C., Herpertz, S., Legenbauer, T., Löw, T., Wechsler, J.G., Bischoff, G., Austel, A., & Ellrott, T. (2012) Multicenter evaluation of an interdisciplinary 52-week weight loss program for obesity with regard to body weight, comorbidities and quality of life--a prospective study. *International Journal of Obesity*, 36, 614-24. [https://doi: 10.1038/ijo.2011.107](https://doi.org/10.1038/ijo.2011.107)

Corgosinho, F.C., Almeida, S.S., Tock, L., Pesquero, J.B., Araújo, R.C., Clemente, A.P.G., Dal'Molin Netto, B., da Silveira Campos, R.M., Masquio, D.C.L., de Carvalho Ferreira, J.P., de Lima Sanches, P., de Piano Ganen, A., Rogero, M.M., Oyama, L.M., Tufik, S.⁹, de Mello, M.T., & Dâmaso, A.R. (2017) LEPR polymorphism may affect energy balance during weight loss among Brazilian obese adolescents. *Neuropeptides*, 66, 18-24. [https://doi: 10.1016/j.npep.2017.07.007](https://doi.org/10.1016/j.npep.2017.07.007).

Dâmaso, A.R. (2009) Obesidade. (1th ed.). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Dâmaso., A.R., De Piano, A., Sanches, P., Corgosinho, F., Tock, L., Oyama, L.M., Tocke, L., Oller do Nascimento, C., Tufik, S., & Mello, M.T. (2011) Hyperleptinemia in obese adolescents deregulates neuropeptides during weight loss. *Peptides*, 32, 1384–1391. [https://doi: 10.1016/j.peptides.2011.04.025](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.04.025).

Donnelly, J.E., Blair, S.N., Jakicic, J.M., Manore, M.M., Rankin, J.W., & Smith, B.K. (2009) American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Medicine Science in Sports and Exercise*, 41, 459-471. [https://doi: 10.1249/MSS.0b013e3181949333](https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181949333).

Dragano, N.R., Haddad-Tovoli, R., & Velloso, L.A. (2017) Leptin, Neuroinflammation and Obesity. *Frontiers of Hormone Research*, 48:84-96. [https://doi: 10.1159/000452908](https://doi.org/10.1159/000452908).

Ferreira, Y.A.M., Kravchychyn, A.C.P., Vicente, S.E.C.F, Campos, R.M.S., Tock, L., Oyama, L.M., Bolsarine, V.T., Masquio, D.C.L., Thivel, D., Shivappa, N., Hébert, J.R., & Dâmaso, A.R. (2019) An Interdisciplinary Weight Loss Program Improves Body Composition and Metabolic Profile in Adolescents With Obesity: Associations With the Dietary Inflammatory Index. *Frontiers in Nutrition*, 6, 77. [https://doi: 10.3389/fnut.2019.00077](https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00077).

Fowler, M.E., & Akinyemiju, T.F. (2017) Meta-analysis of the association between dietary inflammatory index (DII) and cancer outcomes. *International Journal of Cancer*, 11, 2215-2227. <https://doi: 10.1002/ijc.30922>.

Fuentes, E., Fuentes, F., Vilahur, G., Badimon, L., & Palomo, I. (2013) Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome. *Mediators of Inflammation*, 2013, 136584. <https://doi: 10.1155/2013/136584>.

Fuqua, J.S., & Rogol, A.D. (2013) Neuroendocrine alterations in the exercising human: implications for energy homeostasis. *Metabolism*, 62, 911-921. <https://doi: 10.1016/j.metabol.2013.01.016>.

Hotamisligil, G.S. (2010) Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*, 140, 900-17. <https://doi: 10.1016/j.cell.2010.02.034>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE. (2010) Pesquisa de orçamentos familiares, 2008-2009 (POF): Antropometria e análise do estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil.

Maffetone, P.B., Rivera-Dominguez, I., & Laursen, P.B. (2017) Overfat and Underfat: New Terms and Definitions Long Overdue. *Frontiers in Public Health*, 4, 279. <https://doi: 10.3389/fpubh.2016.00279>.

Masquio, D.C., de Piano, A., Campos, R.M., Sanches, P.L., Carnier, J., Corgosinho, F.C., Netto, B.D., Carvalho-Ferreira, J.P., Oyama, L.M., Nascimento, C.M., de Mello, M.T., Tufik, S., & Dâmaso, A.R. (2015) The role of multicomponent therapy in the metabolic syndrome, inflammation and cardiovascular risk in obese adolescents. *British Journal of Nutrition*, 113, 1920-1930. <https://doi: 10.1017/S0007114515001129>.

Milanski, M., Degasperi, G., Coope, A., Morari, J., Denis, R., Cintra, D.E., Tsukumo, D.M., Anhe, G., Amaral, M.E., Takahashi, H.K., Curi, R., Oliveira, H.C., Carvalheira, J.B., Bordin, S., Saad, M.J., & Velloso, L.A. (2009) Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *Journal of Neuroscience*, 29, 359-70. <https://doi: 10.1523/JNEUROSCI.2760-08.2009>.

Minihane A.M. (2015) Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *British Journal of Nutrition*, 114, 999-1012. <https://doi: 10.1017/S0007114515002093>.

Molica, F., Morel, S., Kwak, B.R., Rohner-Jeanrenaud, F., & Steffens, S. (2015) Adipokines at the crossroad between obesity and cardiovascular disease. *Thrombosis and Haemostasis*, 113, 553-566. <https://doi: 10.1160/TH14-06-0513>.

Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, & Schwartz MW. (2006) Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*, 443, 289-95. <https://doi: 10.1038/nature05026>.

National Research Council, NCR. (2001) Dietary Reference Intake: Applications in Dietary Assessment. Washington: National Academic Press.

Neufcourt, L., Assmann, K.E., Fezeu, L.K., Touvier, M., Graffouillère, L., Shivappa, N., Hébert, J.R., Wirth, M.D., Hercberg, S., Galan, P., Julia, C., & Kesse-Guyot, E. (2015) Prospective association between the dietary inflammatory index and metabolic syndrome: Findings from the SU.VI.MAX study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25, 988–996. [https://doi: 10.1016/j.numecd.2015.09.002](https://doi.org/10.1016/j.numecd.2015.09.002).

Rogero, M.M., & Calder, P.C. (2018) Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients*, 10, E432. [https://doi: 10.3390/nu10040432](https://doi.org/10.3390/nu10040432).

Ruiz-Canela, M., Bes-Rastrollo, M., & Martínez-González, M.A. (2016) The Role of Dietary Inflammatory Index in Cardiovascular Disease, Metabolic Syndrome and Mortality. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1265:2-16. [https://doi: 10.3390/ijms17081265](https://doi.org/10.3390/ijms17081265).

Shivappa, N., Steck, S.E., Hurley, T.G., Hussey, J.R., & Hébert, J.R. (2014) Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutrition*, 17, 1689–96. [https://doi: 10.1017/S1368980013002115](https://doi.org/10.1017/S1368980013002115).

Shivappa, N., Godos, J., Hébert, J.R., Wirth, M.D., Piuri, G., Speciani, A.F., & Grosso, G. (2017a) Dietary Inflammatory Index and Colorectal Cancer Risk-A Meta-Analysis. *Nutrients*, 20, 9. [https://doi: 10.3390/nu9091043](https://doi.org/10.3390/nu9091043).

Shivappa, N., Hebert, J.R., Marcos, A., Diaz, L.E., Gomez, S., Nova, E., Michels, N., Arouca, A., González-Gil, E., Frederic, G., González-Gross, M., Castillo, M.J., Manios, Y., Kersting, M., Gunter, M.J., De Henauw, S., Antonios, K., Widhalm, K., Molnar, D., Moreno, L., & Huybrechts, I. (2017b) Association between dietary inflammatory index and inflammatory markers in the HELENA study. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61. [https://doi: 10.1002/mnfr.201600707](https://doi.org/10.1002/mnfr.201600707).

Tanner, J.M., & Whitehouse, R.H. (1976) Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Archives of Diseases in Childhood*, 51, 170-9. [https://doi: 10.1136/adc.51.3.170](https://doi.org/10.1136/adc.51.3.170).

Vehapoğlu, A., Türkmen, S., & Terzioğlu, Ş. (2016) Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone and Agouti-Related Protein: Do They Play a Role in Appetite Regulation in Childhood Obesity? *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 8, 40-47. [https://doi: 10.4274/jcrpe.2136](https://doi.org/10.4274/jcrpe.2136).

Vendrell, J., Broch, M., Vilarrasa, N., Molina, A., Gómez, J.M., Gutiérrez, C., Simón, I., Soler, J., & Richart, C. (2004) Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obesity Research*, 12, 962-71. [https://doi:10.1038/oby.2004.118](https://doi.org/10.1038/oby.2004.118)

World Health Organization, WHO. Obesity and overweight. (2015) Jan. 2016]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

Considerações finais

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A obesidade é uma doença crônica, complexa e multifatorial que nos últimos tempos alcançou relevantes proporções epidemiológicas mundiais em todas as faixas etárias. Evidências científicas das últimas décadas alertam constantemente para a gravidade do problema do aumento da prevalência dessa patologia, especialmente em idade precoces, visto que a fisiopatologia da obesidade acarreta comorbidades que aumentam a morbidade e mortalidade, além do grande percentual de crianças e adolescentes que carregam a doença para a idade adulta.

A desregulação neuroendócrina do balanço energético é uma questão fisiopatológica importante a ser considerada, uma vez que sinais de fome e saciedade são alterados com o aumento do tecido adiposo e estado inflamatório crônico de baixo grau. Esse cenário contribui para o aumento do consumo calórico diário, gerando balanço energético positivo e alimentando um ciclo vicioso entre aumento da ingestão calórica, gasto energético insuficiente e a manutenção/agravamento de fatores envolvidos na fisiopatologia da obesidade.

Nesse sentido, a busca por estratégias que promovam o controle da obesidade pautados em sua complexidade e no entendimento de alterações fisiopatológicas são de grande valia, como é o caso das terapias interdisciplinares. Desse modo, considerando os princípios achados dos artigos apresentados, foi possível discutir que:

- A terapia interdisciplinar de longo prazo se mostrou efetiva para perda de peso, diminuição do percentual de gordura e IMC e, aumento da massa muscular nas três diferentes perspectivas de análise dos aspectos neuroendócrinos do balanço energético discutidas nos artigos.

- As concentrações séricas iniciais de α -MSH influenciaram respostas orexígenas e anorexígenas após terapia interdisciplinar de longo prazo. Os dados apontaram que maiores concentrações iniciais de α -MSH foram capazes de promover melhor modulação de vias anorexígenas/orexígenas em adolescentes com obesidade independente da perda de peso após a terapia.

- Diferentes percentuais de perda de peso alcançados por meio da terapia interdisciplinar de longo prazo podem influenciar de formas distintas respostas orexígenas e anorexígenas dos neuropeptídeos envolvidos no balanço energético,

sendo que a perda de peso corporal menor que 10% parece ser desfavorável a normalização das funções dos neuropeptídeos séricos orexígenos e anorexígenos e a reversão da hiperleptinemia em adolescentes com obesidade.

- Ainda nesse contexto, variações de peso corporal, α -MSH e leptina gerados pelo modelo de terapia interdisciplinar longo prazo para perda de peso podem indicar possível prognóstico de perda de gordura corporal, apresentado pela primeira vez em modelo matemático.

- A análise do consumo alimentar por meio do Índice Inflamatório da Dieta apontou que a diminuição dos escores inflamatórios após terapia interdisciplinar para perda de peso está relacionada a diminuição sérica de neuropeptídeos orexígenos e com aumento na razão anorexígena, resultando em um cenário mais favorável para o controle do peso e da ingestão de alimentos, bem como uma melhora do estado pró-inflamatório.

Evidencia-se por meio dos resultados obtidos na presente tese que importantes mudanças positivas nos aspectos neuroendócrinos do balanço energético podem ser alcançadas quando avaliados fatores como concentrações iniciais dos neuropeptídeos, o percentual de perda de peso e aspectos do consumo alimentar associados a terapia interdisciplinar de longo prazo, controlando assim importantes aspectos fisiopatológicos da obesidade que vão além da perda de peso.

Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESO, Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes brasileiras de obesidade. 2016, 4.ed. São Paulo, SP.

Arslan N, Erdur B, Aydin A. Hormones and cytokines in childhood obesity. *Indian Pediatr.* 2010; 47(10): 829-39.

Bass R, Eneli I. Severe childhood obesity: an under-recognised and growing health problem. *Postgrad Med J.* 2015; 91(1081): 639-45.

Beighle A, Morrow JR. Promoting physical activity: addressing barriers and moving forward. *J Phys Educ Recreat Dance.* 2014; 85(7):23-6.

Bence KK, Delibegovic M, Xue B, Gorgun CZ, Hotamisligil GS, Neel BG, et al. Neuronal PTP1B regulates body weight, adiposity and leptin action. *Nat Med.* 2006; 12(8): 917-24.

Bischoff SC, Damms-Machado A, Betz C, Herpertz S, Legenbauer T, Löw T, et al. Multicenter evaluation of an interdisciplinary 52-week weight loss program for obesity with regard to body weight, comorbidities and quality of life--a prospective study. *Int J Obes (Lond).* 2012; 36(4): 614-24.

Bordicchia M, Liu D, Amri EZ, Ailhaud G, Dessì-Fulgheri P, Zhang C, et al. Cardiac natriuretic peptides act via p38 MAPK to induce the brown fat thermogenic program in mouse and human adipocytes. *J Clin Invest.* 2012; 122(3): 1022-36.

Boguszewski CL, Paz-Filho G, Velloso LA. Neuroendocrine body weight regulation: integration between fat tissue, gastrointestinal tract, and the brain. *Endokrynol Pol.* 2010; 61(2): 194-206.

Bullo M, Casas-Agustench P, Migo-Correig P, Aranceta J, Salas Salvado J. Inflammation, obesity and comorbidities: the role of diet. *Public Health Nutr.* 2007; 10(10A): 1164-72.

Campos RM, de Mello MT, Tock L, da Silva PL, Corgosinho FC, Carnier J, et al. Interaction of bone mineral density, adipokines and hormones in obese adolescents girls submitted in an interdisciplinary therapy. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2013; 26(7-8): 663-8.

Campos RM, Lazaretti-Castro M, Mello MT, Tock L, Silva PL, Corgosinho FC, et al. Influence of visceral and subcutaneous fat in bone mineral density of obese adolescents. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2012; 56(1): 12-8.

Carnier J, de Mello MT, Ackel-DElia C, Corgosinho FC, Campos RM, Sanches Pde L, et al. Aerobic training (AT) is more effective than aerobic plus resistance training (AT+RT) to improve anorexigenic/orexigenic factors in obese adolescents. *Appetite.* 2013; 69: 168-73.

Carnier J, de Piano A, de Lima Sanches P, Tock L, do Nascimento CM, Oyama LM, et al. The role of orexigenic and anorexigenic factors in an interdisciplinary weight loss therapy for obese adolescents with symptoms of eating disorders. *Int J Clin Pract.* 2010; 64(6):784-90.

Corgosinho FC, de Piano A, Sanches PL, Campos RM, Silva PL, Carnier J, Oyama LM, et al. The role of PAI-1 and adiponectin on the inflammatory state and energy balance in obese adolescents with metabolic syndrome. *Inflammation.* 2012; 35(3): 944-51.

Cruz-Machado SS. Lipopolissacarídeo (lps): Ativador e regulador da transcrição gênica via fator de transcrição NFKB. *Revista da Biologia;* 2010; 4: 40-43.

Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. Modulation of energy balance by fibroblast growth factor 21. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016; 30(1).

Dâmaso AR, de Piano A, Campos RM, Corgosinho FC, Siegfried W, Caranti DA, et al. Interdisciplinary approach to the treatment of obese adolescents: effects on cardiovascular risk factors, inflammatory profile, and neuroendocrine regulation of energy balance. *Int J Endocrinol.* 2013; 2013: 541032.

Dâmaso AR, de Piano A, Sanches PL, Corgosinho F, Tock L, Oyama LM, et al. Hyperleptinemia in obese adolescents deregulates neuropeptides during weight loss. *Peptides.* 2011; 32: 1384-91.

Dâmaso AR. *Obesidade.* 2009, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Daniels SR, Arnett DK, Eckel RH, Gidding SS, Hayman LL, Kumanyika S, et al. Overweight in children and adolescents: pathophysiology, consequences, prevention, and treatment. *Circulation.* 2005; 111(15): 1999-2012.

de Carvalho-Ferreira JP, Masquio DC, da Silveira Campos RM, Dal Molin Netto B, Corgosinho FC, Sanches PL, et al. Is there a role for leptin in the reduction of depression symptoms during weight loss therapy in obese adolescent girls and boys? *Peptides.* 2015; 65:20-8.

de Piano A, Tock L, Carnier J, Oyama LM, Oller do Nascimento CM, Martinz AC, et al. Negative correlation between neuropeptide Y/agouti-related protein concentration and adiponectinemia in nonalcoholic fatty liver disease obese adolescents submitted to a long-term interdisciplinary therapy. *Metabolism.* 2010; 59(5): 613-9.

Dragano NR, Haddad-Tovolli R, Velloso LA. Leptin, Neuroinflammation and Obesity. *Front Horm Res.* 2017; 48: 84-96.

de Onis M, Blossner M, Borghi E. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. *Am J Clin Nutr.* 2010. 92(5): 1257-64.

de Onis M, Onyango AW, Borghi E, Siyam A, Nishida C, Siekmann J. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ.* 2007; 85(9): 660-7.

De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, et al. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinology*. 2005; 146(10): 4192-9.

Engeli S, Birkenfeld AL, Badin PM, Bourlier V, Louche K, Viguerie N, et al. Natriuretic peptides enhance the oxidative capacity of human skeletal muscle. *J Clin Invest*. 2012; 122(12): 4675-4679.

Farooqi IS. EJE Prize 2012: Obesity: from genes to behaviour. *Eur J Endocrinol*. 2014; 171(5): R191-5.

Ferrari TK, Cesar CL, Alves MC, Barros MB, Goldbaum M, Fisberg RM. Healthy lifestyle in São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública*. 2017; 33(1): 1-12.

Fields DA, Higgins PB, Radley D. Air-displacement plethysmography: here to stay. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005; 8: 624-9.

Fisher FM, Kleiner S, Douris N, Fox EC, Mepani RJ, Verdeguer F, et al. FGF21 regulates PGC-1 α and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes Dev*. 2012; 26(3): 271-81.

Fornés NS, Stringhini ML, Elias BM. Reproducibility and validity of a food-frequency questionnaire for use among low-income brazilian workers. *Public Health Nutr*. 2003; 6(8): 821-827.

Fuqua JS, Rogol AD. Neuroendocrine alterations in the exercising human: implications for energy homeostasis. *Metabolism*. 2013; 62: 911-921.

Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 316(2): 129-39.

Giralt M, Villarroya F. White, brown, beige/brite: different adipose cells for different functions? *Endocrinology*. 2013; 154(9): 2992-3000.

Giordano A, Smorlesi A, Frontini A, Barbatelli G, Cinti S. White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur J Endocrinol*. 2014; 170(5): R159-171.

Guedes NG, Lopes MVO, Silva VM, Farias LJR, Silva LA, Bessa CC. Clinical validation of factors associated with sedentary lifestyle in adolescents. *Rev Rene*. 2019; 20: e40395.

Gungor NK. Overweight and obesity in children and adolescents. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2014; 6(3): 129-43.

Gutin B, Ramsey L, Barbeau P, Cannady W, Ferguson M, et al. Plasma Leptin Concentrations in Obese Children: Changes During 4-Mo Periods with And Without Physical Training. *Am J Clin Nutr*. 1999; 69: 388-94.

- Han JC, Lawlor DA, Kimm KY. Childhood obesity. *Lancet*. 2010; 375(9727): 1737-48.
- Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*. 2010; 140(6): 900-17.
- Huang Z, Xu A, Cheung BMY. The Potential Role of Fibroblast Growth Factor 21 in Lipid Metabolism and Hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2017; 19(4): 28.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de orçamentos familiares, 2008-2009 (POF): Antropometria e análise do estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. 2010.
- Johnson RJ, Stenvinkel P, Martin SL, Jani A, Sánchez-Lozada LG, Hill JO, et al. Redefining metabolic syndrome as a fat storage condition based on studies of comparative physiology. *Obesity (Silver Spring)*. 2013; 21(4): 659-64.
- Jumabay M, Bostrom KI. Dedifferentiated fat cells: A cell source for regenerative medicine. *World J Stem Cells*. 2015; 7(10): 1202-14.
- Katzmarzyk PT, Barlow S, Bouchard C, Catalano PM, Hsia DS, Inge TH, et al. An evolving scientific basis for the prevention and treatment of pediatric obesity. *Int J Obes (Lond)*. 2014; 38(7): 887-905.
- Kaur, J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract*. 2014; 2014: 943162.
- Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, et al. FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest*. 2005; 115: 1627–35.
- Kim HK, Lee MS. FGF21 as a mediator of adaptative responses to stress and metabolic benefits of anti-diabetic drugs. *J Endocrinol*. 2015; 226: R1-R16.
- Klok MD, Jakobsdottir S, Drent ML. The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev*. 2007; 8: 21-34.
- Klötting N, Blüher M. Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. *Rev Endocr Metab Disord*. 2014; 15(4): 277-87.
- Landsberg L. Feast or famine: the sympathetic nervous system response to nutrient intake. *Cell Mol Neurobiol*. 2006; 26(4-6): 497-508.
- Lee P, Smith S, Linderman J, Courville AB, Brychta RJ, Dieckmann W, et al. Temperature-acclimated brown adipose tissue modulates insulin sensitivity in humans. *Diabetes*. 2014; 63(11): 3686-98.
- Lehnardt S, Massillon L, Follett P, Jensen FE, Ratan R, Rosenberg PA, et al. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100(14): 8514-9.

Levy RB, Castro IRR, Cardoso LO, Tavares LF, Sardinha LMV, Gomes FS, et al. Food consumption and eating behavior among Brazilian adolescents: National Adolescent School-based Health Survey (PeNSE), 2009. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2010; 15(Supl. 2): 3085-3097.

Lo KA, Sun L. Turning WAT into BAT: a review on regulators controlling the browning of white adipocytes. *Biosci Rep*. 2013; 33(5): 711-19.

Lohman TG, Roche AF, Martorrel R. Anthropometric standardization reference manual. 1988: Human Kinetic/books.

Maclean PS, Bergouignan A, Cornier MA, Jackman MR. Biology's response to dieting: the impetus for weight regain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011; 301(3): R581-600.

Madeira I, Bordallo MA, Rodrigues NC, Carvalho C, Gazolla F, Collett-Solberg P, et al. Leptin as a predictor of metabolic syndrome in prepubertal children. *Arch Endocrinol Metab*. 2017; 61(1): 7-13.

Masquio DC, de Piano A, Sanches PL, Corgosinho FC, Campos RM, Carnier J, et al. The effect of weight loss magnitude on pro-/anti-inflammatory adipokines and carotid intima-media thickness in obese adolescents engaged in interdisciplinary weight loss therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013; 79(1): 55-64.

Masquio DC, de Piano A, Campos RM, Sanches PL, Carnier J, Corgosinho FC, et al. The role of multicomponent therapy in the metabolic syndrome, inflammation and cardiovascular risk in obese adolescents. *Br J Nutr*. 2015; 113(12): 1920-30.

Milanski M, Degasperi G, Coope A, Morari J, Denis R, Cintra DE, et al. Saturated fatty acids produce an inflammatory response predominantly through the activation of TLR4 signaling in hypothalamus: implications for the pathogenesis of obesity. *J Neurosci*. 2009; 29(2): 359-70.

Moehlecke M, Canani LH, Silva LO, Trindade MR, Friedman R, Leitão CB. Determinants of body weight regulation in humans. *Arch Endocrinol Metab*. 2016; 60(2): 152-162.

Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*. 2006; 443(7109): 289-95.

NCD, Risk Factor Collaboration. Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 populationbased measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet*. 2016; 387(10026): 1377-1396.

NCD, Risk Factor Collaboration. Worldwide trends in bodymass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128•9 million children, adolescents, and adults. *Lancet*. 2017; 390(10113): 2627- 2642.

Nuutila P. Brown adipose tissue thermogenesis in humans. *Diabetologia*. 2013; 56(10): 2110-2.

Oyama LM, do Nascimento CM, Carnier J, de Piano A, Tock L, Sanches Pde L, et al. The role of anorexigenic and orexigenic neuropeptides and peripheral signals on quartiles of weight loss in obese adolescents. *Neuropeptides*. 2010; 44: 467-474.

Parlee SD, Lentz SI, Mori H, MacDougald OA. Quantifying size and number of adipocytes in adipose tissue. *Methods Enzymol*. 2014; 537: 93-122.

Picardi PK, Calegari VC, Prada P de O, Moraes JC, Araújo E, Marcondes MCCG, et al. Reduction of hypothalamic protein tyrosine phosphatase improves insulin and leptin resistance in diet-induced obese rats. *Endocrinology*. 2008; 149(8): 3870-80.

Phillip ST, Latterza AR, Cruz, ATR, Ribeiro LC. Pirâmide alimentar adaptada: guia para escolha dos alimentos. *Rev Nutr*. 1999; 12(1): 65-80.

Prado WL, Lofrano-Prado MC, Oyama LM, Cardel M, Gomes PP, Andrade ML, et al. Effect of a 12-week low vs. high intensity aerobic exercise training on appetite-regulating hormones in obese adolescents: a randomized exercise intervention study. *Pediatr Exerc Sci*. 2015; 27(4): 510-7.

PNAN, Política Nacional de Alimentação e Nutrição / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Básica. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

Pyrżak B, Demkow U, Kucharska AM. Brown Adipose Tissue and Browning Agents: Irisin and FGF21 in the Development of Obesity in Children and Adolescents. *Adv Exp Med Biol*. 2015. 866: 25-34.

Raj M, Kumar RK. Obesity in children & adolescents. *Indian J Endocrinol Metab*. 2012; 16(1): 13-9.

Ramachandrappa S, Farooqi IS. Genetic approaches to understanding human obesity. *J Clin Invest*. 2011; 121(6): 2080-6.

Reed AS, Unger EK, Olofsson LE, Piper ML, Myers MG Jr, Xu AW. Functional role of suppressor of cytokine signaling 3 upregulation in hypothalamic leptin resistance and long-term energy homeostasis. *Diabetes*. 2010; 59(4): 894-906.

Roff H, Jappy C. Adiposity and the Role of Neuroendocrine Hormones in Energy Balance. *AACN Adv Crit Care*. 2017 28(3): 284-8.

Sanches PL, de Piano A, Campos RM, Carnier J, de Mello MT, Elias N, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with cardiovascular risk factors in obese adolescents: the role of interdisciplinary therapy. *J Clin Lipidol*. 2014a; 8(3): 265-72.

Sanches PL, de Mello MT, Elias N, Fonseca FA, Campos RM, Carnier J, et al. Hyperleptinemia: implications on the inflammatory state and vascular protection in obese adolescents submitted to an interdisciplinary therapy. *Inflammation*. 2014b; 37(1): 35-43.

Sanches PL, Tock L, Dâmaso AR. Obesidade. In: Dâmaso AR. *Nutrição e exercício na prevenção de doenças*. 2012, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, Olza J, Aguilera CM, Gil Á, Ruiz JR. Role of Exercise in the Activation of Brown Adipose Tissue. *Ann Nutr Metab*. 2015; 67(1): 21-32.

Santhekadur PK, Kumar DP, Seneshaw M, Mirshahi F, Sanyal AJ. The multifaceted role of natriuretic peptides in metabolic syndrome. *Biomed Pharmacother*. 2017; 92: 826-35.

Sarzani R, Dessì-Fulgheri P, Paci VM, Espinosa E, Rappelli A. Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose and other tissues. *J Endocrinol Invest*. 1996; 19(9): 581–85.

Schwartz C, King NA, Perreira B, Blundell JE, Thivel D. A systematic review and meta-analysis of energy and macronutrient intake responses to physical activity interventions in children and adolescents with obesity. *Pediatr Obes*. 2017; 12: 179–94.

Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA, Holz GG, Moritz W, Ricordi C, Habener JF. Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999; 84(2): 670-6.

Shivappa N, Steck SE, Hurley TG, Hussey JR, Hébert JR. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr*. 2014; 17: 1689–96.

Song W, Wang H, Wu Q. Atrial natriuretic peptide in cardiovascular biology and disease (NPPA). *Gene*. 2015; 569(1): 1-6.

Speretta GFF, Leite RD, Duarte ACGO. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10. *Rev HUPE*, 2014; 13(1): 61-9.

Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child*. 1976; 51(3): 170-9.

Tian DR, Li XD, Shi YS, Wan Y, Wang XM, Chang JK, et al. Changes of hypothalamic alpha-MSH and CART peptide expression in diet-induced obese rats. *Peptides*. 2004; 25(12): 2147-53.

Thaler JP, Yi CX, Schur EA, Guyenet SJ, Hwang BH, Dietrich MO, et al. Obesity is associated with hypothalamic injury in rodents and humans. *J Clin Invest* 2012; 122: 153–62.

Thivel D, Isacco L, Montaurier C, Boirie Y, Duché P, Morio B. The 24-h energy intake of obese adolescents is spontaneously reduced after intensive exercise: a randomized controlled trial in calorimetric chambers. *PLoS One*. 2012; 7(1): 829–40.

Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2004; 92(3): 347-55.

Triantafyllou GA, Paschou SA, Mantzoros CS. Leptin and Hormones: Energy Homeostasis. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2016; 45(3): 633-45.

van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E. Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev*, 2004. 25(3): p. 426-57.

van de Sande-Lee S, Pereira FRS, Cintra DE, Fernandes PT, Cardoso AR, Garlipp CR, et al. Partial reversibility of hypothalamic dysfunction and changes in brain activity after body mass reduction in obese subjects. *Diabetes*. 2011; 60(6):1699-704.

Vendrell J, Broch M, Vilarrasa N, Molina A, Gómez JM, Gutiérrez C, et al. Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: relationships in obesity. *Obes Res*. 2004; 12(6): 962-71.

VIGITEL, Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Ministério da Saúde. Brasília: Ministério da Saúde, Agência Nacional de Saúde Suplementar; 2017.

VIGITEL, Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Ministério da Saúde. Hábitos dos brasileiros impactam no crescimento da obesidade e aumenta prevalência de diabetes e hipertensão, 2017. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/17/Vigitel.pdf>.

Wasserman K. Determinants and detection of anaerobic threshold and consequences of exercise above it. *Circulation*. 1987; 76(6 Pt 2): 29-39.

WHO, World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization. WHO Technical Report Series, 894. 2000.

WHO, World Health Organization. Obesity and overweight. [Jan. 2016]; Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. 2015.

WHO, World Health Organization. Growth reference data for 5-19 years. Available from: <https://www.who.int/growthref/en/>. 2007.

WHO, World Health Organization. European Ministerial Conference on Counteracting Obesity: Diet and Physical Activity for Health., W. Word Health Organization, Editor: Istambul, Turkey. 2006.

Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kadowaki T. Adiponectin receptors: a review of their structure, function and how they work. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014; 28(1): 15-23.

Abstract

Abstract

Introduction: The obesity is a complex, multifactorial and chronic disease with biological and social consequences that causes a lot of comorbidities. The positive energy balance can be generated by the deregulation of some important appetite-regulating hormones that modulate orexigenic (neuropeptide Y – NPY, and agouti-related peptide - AgRP) and anorexigenic (Alpha-melanocyte-stimulating hormone - α -MSH) pathways. These hormones control the hunger and satiety, increase the size and quantify to the adipose cells; modify the adipocytokines actions (Leptin and Adiponectin); and had negative influence in the obesity physiopathology. In this context, the studies with human and energy balance variables are very scarce, especially in pediatrics population, prospective therapies such as interdisciplinary intervention to weight loss, and variations of hormones and neuropeptides involved in energy balance pathways. **Propose:** To verify in adolescents with obesity submitted to long-term interdisciplinary therapy to weight loss the role of α -MSH levels on body adiposity and orexigenic/anorexigenic neuropeptides responses; the association between the magnitude of weight loss and serum concentrations of the main adipocytokines and appetite-regulating hormones; and to analyze the association between Dietary Inflammatory Index (E-DII) scores, adipocytokines and serum concentrations of neuropeptides. **Methods:** 148 adolescents, both genders and aged 14 to 19 years old, were classify with obesity by Body Mass Index (WHO) and post-pubertal five stage by Tanner classification. The volunteers were submitted to one year of interdisciplinary therapy (clinical, nutritional, psychological, physical exercise and physiotherapy support). At baseline and post intervention body composition and serum levels of leptin, adiponectin and energy balance neuropeptides (α MSH, MCH, NPY and AgRP) were measured. The statistical analyzes was made by Statistica 7.0 software and the significance was set as $p < 0.05$.

Results:

Article 1 – 110 volunteers were grouped by baseline Tertiles of α -MSH concentration: Low (< 0.75 ng/ml), Medium (≤ 0.76 to ≥ 1.57 ng/ml) and High (> 1.57 ng/ml). The treatment promoted a significant improvement in body adiposity and fat free mass for all groups. In highlight, only in the high α -MSH group it was observed

a significant increase of the α -MSH/NPY ratio and decrease NPY/AgRP ratio post treatment.

Article 2 – 108 volunteers were grouped by weight loss percentage after interdisciplinary therapy. It was compared adolescents who lost less than 10% body weight (LWL) and more than 10% body weight (HWL). Both groups presented reductions in BC and Leptin. The $\Delta\alpha$ -MSH, $\Delta\alpha$ -MSH/AgRP ratio and $\Delta\alpha$ -MSH/NPY ratio were lower and AgRP and NPY variations were higher in the LWL. The Leptin concentration was close to normal in the HWL only. The Δ Weight, $\Delta\alpha$ -MSH and Δ Leptin were associated with BF loss by multiple linear regression for all sample.

Article 3 – 50 adolescents were classified according to increase ($> E$ -DII; $n=30$) or decrease ($< E$ -DII; $n=20$) in their E-DII scores by three days diary. In both groups we observed reductions in body weight and body fat and increase in free fat mass. Leptin levels were reduced in both groups while adiponectin values increased only in the $<E$ -DII group. Serum neuropeptides levels, anorexigenic and orexigenic ratios did not change after treatment in the $>E$ -DII group, but to $<E$ -DII group there was a significant reduction in α MSH, MCH and NPY levels and an increase in the anorexigenic ratio α MSH/NPY. A negative correlation was found between Δ SFAs with $\Delta\alpha$ MSH/AgRP ($r=-0.35$; $p=0.01$), Δ NPY/AgRP and Δ MUFAs ($r=-0.33$; $p=0.01$) and PUFAs ($r=-0.31$; $p=0.02$).

Conclusions: In conclusion, the high α -MSH concentration promotes better modulation of anorexigenic/orexigenic pathways in obese adolescents following long-term weight loss therapy and this is important in the clinical practice. High weight loss (above 10%) seems to reverse obesity-induced hyperleptinemia while stabilization the neuropeptides that control appetite in adolescents with obesity. We were able to produce a prognostic mathematical model to predict BF loss using weight, Leptin and α -MSH variations. Finally, in the group who had a decreased E-DII score after long-term interdisciplinary weight loss therapy, there was also a decrease in orexigenic neuropeptides and an increase in the anorexigenic ratio, resulting in a more favorable scenario for controlling weight and food intake, as well as an improvement in the proinflammatory state.

Anexos



Anexo 1. Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

Carta de Aprovação do Projeto – Comitê de Ética



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 25 de junho de 2004.
CEP 0135/04

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) ANA RAIMUNDA DÂMASO
Disciplina/Departamento: Pediatria Geral e Comunitária/Pediatria da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: "Impacto de ação multiprofissional sobre a composição corporal, adiposidade visceral, central e periférica, distúrbios do sono e transtornos do humor em adolescentes obesos".

Prezado(a) Pesquisador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU e APROVOU** o projeto de pesquisa acima referenciado.

Conforme resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde são deveres do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. Apresentar primeiro relatório parcial em **22/dezembro/2004**.
5. Apresentar segundo relatório parcial em **20/junho/2005**.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

"Ressaltamos que é de essencial importância que seja verificado, antes da divulgação dos processos e/ou resultados obtidos nesta pesquisa, se os mesmos são potencialmente patenteáveis ou passíveis de outras formas de proteção intelectual/industrial. A proteção por meio do depósito de patente, ou de outras formas de proteção da propriedade intelectual, evita a ação indevida de terceiros e confere maior segurança quando da publicação dos resultados da pesquisa."



Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 4 de dezembro de 2008.

CEP 0135/04
CONEP

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) ANA RAIMUNDA DÂMASO
Disciplina/Departamento: Pediatria Geral e Comunitária/Pediatria da
Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: **"Impacto de ação multiprofissional sobre a composição corporal, adiposidade visceral, central e periférica, distúrbios do sono e transtornos do humor em adolescentes obesos"**.

Prezado(a) Pesquisador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo ANALISOU e APROVOU Adendo ao projeto (versão 1 de 18/nov/2008) - inclusão de exames complementares do projeto de pesquisa acima referenciado.

Atenciosamente,

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

OBS: Informamos que, de acordo com a carta Circular nº 003-CONEP/CNS de 14 de fevereiro de 2001 não há necessidade do parecer da CONEP para emendas aos protocolos, salvo quando o CEP solicitar. Nos projetos de Grupo I e II, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las à ANVISA junto com o parecer aprobatório do CEP/UNIFESP.

"Resaltamos que é de essencial importância que seja verificado, antes da divulgação dos processos e/ou resultados obtidos nesta pesquisa, se os mesmos são potencialmente patenteáveis ou passíveis de outras formas de proteção intelectual/industrial. A proteção por meio do depósito de patente, ou de outras formas de proteção da propriedade intelectual, evita a ação indevida de terceiros e confere maior segurança quando da publicação dos resultados da pesquisa."

Rua Botucatu, 572 - 1º andar - conj. 14 - CEP 04023-062 - São Paulo / Brasil
Tel.: (011) 5571-1062 - 5539.7162

Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

IMPACTO DE AÇÃO MULTIPROFISSIONAL SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, ADIPOSIDADE, VISCERAL, CENTRAL E PERIFÉRICA, PERFIL LIPÍDICO, REGULAÇÃO HORMONAL, DISTÚRBIOS DO SONO E TRANSTORNOS DO HUMOR EM ADOLESCENTES OBESOS.

AS TAXAS DE SOBREPESO E OBESIDADE REPRESENTAM ATUALMENTE ÍNDICES MUITO ELEVADOS, CARACTERIZANDO UMA EPIDEMIA GLOBAL. O EXCESSO DE PESO TRAZ CONSIGO AUMENTO DOS RISCOS DE DOENÇAS CARDIOVASCULARES, DIABETES, HIPERTENSÃO, PROBLEMAS ORTOPÉDICOS E RESPIRATÓRIOS DENOTANDO A IMPORTÂNCIA NO SEU CONTROLE E PREVENÇÃO. O CONTROLE DE PESO DEVE SER INICIADO O MAIS PRECOCAMENTE POSSÍVEL, POR ISSO A ADOLESCÊNCIA É UM EXCELENTE ESTÁGIO DE VIDA PARA A PROMOÇÃO DE HÁBITOS SAUDÁVEIS POR MEIO DE ORIENTAÇÕES NUTRICIONAIS, ATIVIDADE FÍSICA, ATENDIMENTO MÉDICO E PSICOLÓGICO.

ESSAS INFORMAÇÕES ESTÃO SENDO FORNECIDAS PARA A SUA PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA NESTE ESTUDO, QUE VISA INTERAGIR AÇÕES DE VÁRIOS PROFISSIONAIS DA ÁREA DE SAÚDE, VISANDO MELHOR ESPECIFICAR OS EFEITOS DE DIFERENTES FORMAS DE EXERCÍCIO SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, SAÚDE METABÓLICA, DISTÚRBIOS DO SONO E TRANSTORNOS DO HUMOR EM ADOLESCENTES OBESOS, SUBMETIDOS À INTERVENÇÃO DE PROFISSIONAIS MÉDICOS, NUTRICIONAIS, EDUCADORES FÍSICOS E PSICÓLOGOS.

OS PARTICIPANTES DO PROJETO SERÃO AVALIADOS POR UMA EQUIPE MULTIDISCIPLINAR E SERÃO SUBMETIDOS À AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA (PESO E ALTURA), AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL POR MEIO DO APARELHO DEXA, AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA (COLESTEROL TOTAL E FRAÇÕES, TRIGLICÉRIDES, GLICEMIA DE JEJUM, INSULINA, LEPTINA E GRELINA), AVALIAÇÃO DA ALIMENTAÇÃO. PASSARÃO TAMBÉM POR CONSULTAS MÉDICAS E PSICOLÓGICAS, ALÉM DE RECEBEREM ATIVIDADES FÍSICAS ORIENTADAS. SERÁ NECESSÁRIA A COLETA DE 10 ML DE SANGUE PARA A REALIZAÇÃO DOS EXAMES CITADOS. OS DEMAIS PROCEDIMENTOS NÃO SERÃO INVASIVOS. OS RESULTADOS SERÃO ANALISADOS PARA QUE OS ADOLESCENTES POSSAM RECEBER ORIENTAÇÕES ESPECÍFICAS.

TODAS AS INFORMAÇÕES OBTIDAS NESTE TRABALHO SERÃO CONFIDENCIAIS, E EM NENHUM MOMENTO O SEU NOME SERÁ DIVULGADO, ASSIM COMO OS PESQUISADORES COMPROMETEM-SE A UTILIZAR OS DADOS E O MATERIAL COLETADO SOMENTE PARA ESTA PESQUISA.

EM CASO DE DANO PESSOAL DIRETAMENTE CAUSADO PELOS PROCEDIMENTOS PROPOSTOS NESTE ESTUDO, VOCÊ TERÁ O DIREITO A TRATAMENTO MÉDICO NA INSTITUIÇÃO, BEM COMO AS INDENIZAÇÕES LEGALMENTE ESTABELECIDAS.

EM QUALQUER ETAPA DO ESTUDO, VOCÊ TERÁ ACESSO AOS PROFISSIONAIS RESPONSÁVEIS PELA PESQUISA PARA ESCLARECIMENTO DE EVENTUAIS DÚVIDAS. A PRINCIPAL INVESTIGADORA É A PROF^A DR^A ANA DÂMASO QUE PODE SER ENCONTRADA A RUA MARSELHESA, 535 715, TELEFONE (11) 5572-0177. SE VOCÊ TIVER ALGUMA CONSIDERAÇÃO OU DÚVIDA SOBRE A ÉTICA DA PESQUISA, ENTRE EM CONTATO COM O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP) – RUA BOTUCATU, 572 1º ANDAR CONJUNTO 14, TELEFONE (11) 5571-1062 E FAX (11) 5539-7162 – E-MAIL: CEPUNIFESP@EPM.BR.

É GARANTIDA A LIBERDADE DA RETIRADA DE CONSENTIMENTO A QUALQUER MOMENTO E DEIXAR DE PARTICIPAR DO ESTUDO, SEM QUALQUER PREJUÍZO A CONTINUIDADE DE SEU TRATAMENTO NA INSTITUIÇÃO. É DIREITO DO VOLUNTÁRIO DE SER MANTIDO ATUALIZADO SOBRE OS RESULTADOS PARCIAIS DA PESQUISA.

NÃO HAVERÁ DESPESAS PESSOAIS PARA O PARTICIPANTE EM QUALQUER FASE DO ESTUDO, INCLUINDO EXAMES E CONSULTAS. TAMBÉM NÃO HAVERÁ COMPENSAÇÃO FINANCEIRA RELACIONADA À SUA PARTICIPAÇÃO. SE EXISTIR QUALQUER DESPESA ADICIONAL, ELA SERÁ ABSORVIDA PELO ORÇAMENTO DA PESQUISA.

AUTORIZAÇÃO

ACRÉDITO TER SIDO SUFICIENTEMENTE INFORMADO A RESPEITO DAS INFORMAÇÕES QUE LI OU QUE FORAM LIDAS PARA MIM, DESCREVENDO O ESTUDO "IMPACTO DE AÇÃO MULTIPROFISSIONAL SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, ADIPOSIDADE, DISTÚRBIOS DO SONO E TRANSTORNOS DO HUMOR EM ADOLESCENTES OBESOS".

EU DISCUTI COM A PROF^A DR^A ANA DÂMASO SOBRE A MINHA DECISÃO EM PARTICIPAR NESSE ESTUDO. FICARAM CLAROS PARA MIM QUAIS SÃO OS PROPÓSITOS DO ESTUDO, OS PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS, SEUS DESCONFORTOS E RISCOS, AS GARANTIAS DE CONFIDENCIALIDADE E DE ESCLARECIMENTOS PERMANENTES. FICOU CLARO TAMBÉM QUE A MINHA PARTICIPAÇÃO É ISENTA DE DESPESAS E QUE TENHO GARANTIA DE ACESSO A TRATAMENTO HOSPITALAR QUANDO NECESSÁRIO. CONCORDO VOLUNTARIAMENTE EM PARTICIPAR DESTA PESQUISA E PODEREI RETIRAR O MEU CONSENTIMENTO A QUALQUER MOMENTO, ANTES OU DURANTE O MESMO, SEM PENALIDADES OU PREJUÍZO OU PERDA DE QUALQUER BENEFÍCIO QUE EU POSSA TER ADQUIRIDO, OU NO MEU ATENDIMENTO NESTE SERVIÇO.

DECLARAÇÃO

DECLARO QUE OBTIVE DE FORMA APROPRIADA E VOLUNTÁRIA O CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO DESTA PACIENTE OU REPRESENTANTE LEGAL PARA A PARTICIPAÇÃO NESTE ESTUDO.

DATA: ____ / ____ / ____

PROF^A DR^A ANA DÂMASO

Anexo 3. Termo de Assentimento

TERMO DE ASSENTIMENTO

IMPACTO DE AÇÃO MULTIPROFISSIONAL SOBRE A COMPOSIÇÃO CORPORAL, ADIPOSIDADE, VISCERAL, CENTRAL E PERIFÉRICA, PERFIL LIPÍDICO, REGULAÇÃO HORMONAL, DISTÚRBIOS DO SONO E TRANSTORNOS DO HUMOR EM ADOLESCENTES OBESOS

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa **"Impacto de Ação Multiprofissional Sobre a Composição Corporal, Adiposidade, Visceral, Central e Periférica, Perfil Lipídico, Regulação Hormonal, Distúrbios do Sono e Transtornos do Humor em Adolescentes Obesos"**. O motivo que nos leva a estudar esse assunto é que as taxas de excesso de peso representam atualmente índices muito elevados, alcançando um número muito grande de pessoas de todas as idades no mundo. O excesso de peso traz consigo aumento dos riscos de várias doenças, como as doenças do coração, diabetes, pressão alta, problemas para andar e de respiração, ressaltando a importância no seu controle e prevenção. O controle de peso deve ser iniciado o mais cedo possível, por isso a adolescência é um excelente estágio de vida para a promoção de hábitos saudáveis por meio de orientações de nutrição e psicologia, prática de exercício físico e atendimento médico.

Você será avaliado por uma equipe de vários profissionais da saúde. A avaliação do peso, altura e medida da cintura serão obtidas. A composição corporal será estimada por um aparelho de "pletismografia por deslocamento de ar" e densitometria óssea para determinar a quantidade de gordura, massa muscular e conteúdo/ densidade óssea do seu corpo. Será realizado a coleta de sangue para determinar algumas substâncias, como colesterol total e frações, triglicerídeos, glicemia de jejum, insulina, leptina, adiponectina, inibidor do ativador de plasminogênio 1, interleucinas 10 e 6, fator de necrose tumoral alfa, grelina e marcadores ósseos. Será necessária a coleta de 10 ml de sangue para a realização destes exames. Os demais procedimentos não serão invasivos.

Será realizada uma ultrassonografia da região abdominal para determinação da gordura localizada nesta região. Também será realizado um teste chamado eletrocardiograma de repouso e de esforço para verificar se você pode praticar exercícios físicos. Neste teste alguns eletrodos serão colados no seu corpo para ver o comportamento do seu coração durante o repouso e durante uma caminhada na esteira. Outro teste chamado ergoespirometria de esforço, também será aplicado em esteira ou bicicleta, para determinar como será a carga de treinamento durante o exercício físico, sendo que você deverá dar seu esforço máximo neste teste. O consumo alimentar será estimado por questionários no quais você deverá anotar todos os alimentos e bebidas ingeridos por 3 dias e a frequência de consumo de determinados alimentos nos últimos meses. Todos os resultados serão analisados para que você possa receber orientações específicas durante 30 semanas de tratamento. Além disso, será necessário o preenchimento de alguns questionários para você receber orientações psicológicas. Neste estudo, você participará de um protocolo de intervenção interdisciplinar, ou seja, com a participação de várias profissionais, como médico, nutricionista, educador físico, fisioterapeuta e psicólogo. Você realizará exercícios físicos, 3 vezes na semana, sendo 30 minutos de exercícios na bicicleta e esteira ergométricas e 30 minutos de musculação. Também serão oferecidas consultas com nutricionista, psicólogo e médico mensais e individuais e orientações para mudanças de estilo de vida em grupo, durante 60 minutos por semana. Você poderá escolher se quer participar ou não desse estudo. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos pedindo seu acordo. Se você for participar na pesquisa, seus pais ou responsáveis também terão que concordar. Mas se você não desejar fazer parte na pesquisa, não é obrigado, até mesmo se seus pais não concordarem. Você não terá que pagar nada para participar, nem receberá qualquer dinheiro em troca. Você será esclarecido(a) em qualquer momento que desejar. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. Você não precisa participar desta pesquisa se não quiser. É você quem decide. Se decidir não participar da pesquisa, é seu direito e nada mudará no seu tratamento de saúde. Mesmo assim, este serviço de saúde estará disponível para você. Até mesmo se disser "sim" agora, poderá mudar de ideia depois, sem nenhum problema. Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não compartilharemos informação sobre você para qualquer um que não trabalhe

na pesquisa. Depois que a pesquisa acabar, os resultados serão informados para você e para seus pais.

Este estudo apresenta risco mínimo, isto é, o mesmo risco existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler, etc. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A coordenadora do projeto de intervenção é a Profa. Dra Ana Dâmaso, a mesma pode ser encontrada na Rua Prof. Francisco de Castro, 93, telefone (11) 5572-0177. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Botucatu, 572 1º andar conjunto 14, telefone (11) 5571-1062 e fax (11) 5539-7162 – E-mail: cepunifesp@epm.br.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizados. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você.

Eu, _____, portador(a) do documento de Identidade _____, fui informado(a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

São Paulo, ____ de ____ de ____.

Assinatura do(a) menor

Prof. Dra Ana Dâmaso

Anexo 4. Anamnese inicial

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO
ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA
PROGRAMA DE ATENDIMENTO MULTIDISCIPLINAR AO ADOLESCENTE
OBESO

ANAMNESE CLÍNICA

Dr. Lian Tock

CRM 19868

IDENTIFICAÇÃO

Nome Completo.....

Data de Nascimento.....

Idade Atual (anos/meses).....

Grau de Instrução.....

Endereço Completo.....

.....

Telefone Residencial.....

Telefone Celular.....

Grau de Instrução dos Pais.....

.....

Tipo de Trabalho dos Pais.....

.....

Horário de Trabalho.....

Horário de Estudo.....

Atividades Complementares.....

Número de pessoas que moram na casa.....

QUEIXA E DURAÇÃO

Início da Obesidade.....

História Pregressa:

.....

.....

EXAME FÍSICO GERAL

Peso:..... **Estatura:**..... **IMC:**.....
Circunferências:..... Cintura:.....
Abdômen:.....
PESCOÇO:..... QUADRIL.....
Idade de Menarca:.....
Pressão Arterial:.....

Sinais e Sintomas

Pele:
Cor.....
Lesões elementares da pele:
Manchas.....
Lesões sólidas.....
Lesões de conteúdo líquido.....
Pruridos.....
Outras:.....
Tecido Celular subcutâneo:
Celulite.....
Estrias.....
Lipomas.....
Alterações do cabelo.....
Alteração das unhas.....
Problemas dentários.....
Tontura.....
Vômito.....
Queimação do estômago.....
Refluxo.....
Poliúria.....
Nicturia.....
TPM.....
Alterações menstruais.....
Excesso de pelos.....
Falta de ar.....
Chiado no peito.....
Alergias.....
.....

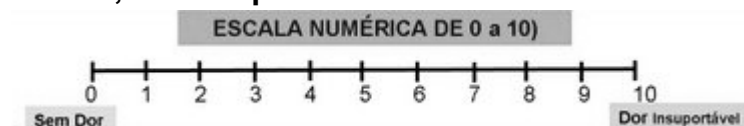
Você sente dor em alguma região do corpo? ()SIM ()NÃO

Qual? _____

Quando? _____

Melhora com: _____

Se sim, classifique na escala:



História de lesão osteo-muscular _____

Peso ao nascer.....**Comprimento ao nascer**.....

Ganho de peso gestacional

Aleitamento materno exclusivo.....

Tempo de aleitamento materno total

Desmame e introdução alimentar.....

Comportamento alimentar na infância.....

Tônus Muscular.....

Controle esfincteriano.....

Hábito intestinal:

() normal () constipação () Diarréia

Sono:

Roncos.....

Sonolência.....

Insônia.....

Sono agitado.....

Horário que dorme e levanta:.....

DOENÇAS PREGRESSAS

.....
.....
.....
.....

ANTECEDENTES FAMILIARES E HEREDITÁRIOS

Obesidade:

Pai() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Mãe() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Irmão(s)() Irmã(s)()

Diabetes:

Pai() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Mãe() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Irmão(s)() Irmã(s)()

Hipertensão Arterial:

Pai() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Mãe() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Irmão(s)() Irmã(s)()

Infarto Agudo do Miocárdio:

Pai() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Mãe() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()

Irmão(s)() Irmã(s)()

Acidente Vascular encefálico:

Pai() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()
Mãe() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()
Irmão(s)() Irmã(s)()

Colesterol Alto:

Pai() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()
Mãe() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()
Irmão(s)() Irmã(s)()

Tireoidepatias:

Pai() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()
Mãe() Avô() Avó() Tio(s)() Tia(s)() Primo(s)() Prima(s)()
Irmão(s)() Irmã(s)()

ANAMNESE COMPORTAMENTAL

HISTÓRICO DE PROBLEMAS PSICOLÓGICOS/PSIQUIÁTRICOS

() *Não* **SIM:** () *Sim, mas nunca teve acompanhamento.*

() *Sim, com acompanhamento*

psicoterapêutico

() *Sim, com acompanhamento psiquiátrico.*

Acontecimentos de vida

() Casamento () Gravidez

() Acontecimentos de vida significativos e acidentais.

Atribuição Causal da Obesidade

() Hábitos alimentares inadequados

() Acontecimento de vida

() Alteração do estado emocional.

() Sedentarismo

() Fatores hereditários

() Outros.

COMPORTAMENTO:

Ansioso:.....
Depressivo..:.....
Raciocínio:.....
Aproveitamento Escolar:.....
Relação com a família:.....
Relação com os amigos:.....

COMPORTAMENTO ALIMENTAR

Mastigação:.....
Número de refeições diárias:.....
Horário das refeições:.....
Horário do dia em que tem mais fome:.....
Consumo de bebida alcóolica
Compulsão Alimentar() D ou N:..... **Alimento Específico:**.....
Sintomas Bulímicos() Sintomas Anoréxicos()

ESTILO DE VIDA E ATIVIDADE FÍSICA

Pratica exercícios físicos: Sim() Não(). Se sim, Qual:.....
Quantas vezes por semana:.....
Tempo despedido (minutos) com:TV() Computador() Vídeo Game()
Fuma Sim() Não() Quantos cigarros por dia:.....
Há quanto tempo:.....

COMPLEMENTAÇÃO

Tentativas de tratamentos Anteriores

Qual tipo?.....
Quantos.....Tempo do tratamento.....
Resultado.....
Abandonou o tratamento?.....
Se sim, porque.....

Motivos subjacentes à tomada de decisão frente ao projeto de obesidade.

() melhoria dos problemas de saúde associados

() eficácia do tratamento na perda de peso

() melhorar a auto-estima

() melhorar estética

() Outros_____

O que faria depois de atingir o peso ideal?.....

CITE 5 PROBLEMAS RELACIONADOS COM O SEU PESO ATUAL.

- 1.....
- 2.....
- 3.....
- 4.....
- 5.....

() Sintomas físicos

() Sintomas psicológicos

() Doenças

() Problemas relacionais

() Insatisfação com o corpo

() Problemas relacionais

() Problemas sociais/ Profissionais

() Problemas sexuais/conjugais

Grau de motivação face ao tratamento.

() 0 a 4 (baixo)

() 5 a 7 (moderado)

() 8 a 10 (elevado)

Artigo 4

- ARTIGO 4

Título: Higher increase degree of FGF21 post long-term interdisciplinary weight loss therapy preserves the free fat mass and rest metabolic rate in adolescents with obesity

Finalista do prêmio de Melhor Trabalho clínico do XVIII Congresso Brasileiro de Obesidade e Síndrome Metabólica 2019

Revista: Archives of Endocrinology and Metabolism

Ano de publicação: 2020

Higher increase degree of FGF21 post long-term interdisciplinary weight loss therapy preserves the free fat mass and rest metabolic rate in adolescents with obesity

Ana Claudia Pelissari Kravchychyn¹, Raquel Munhoz da Silveira Campos², Yasmin Alaby Martins Ferreira¹, Sofia Emanuelle de Castro Ferreira Vicente¹, Flávia Campos Corgosinho³, Lila Missae Oyama¹, David Thivel⁴, Lian Tock¹, Ana Raimunda Dâmaso¹.

¹Federal University of Sao Paulo, Sao Paulo - Brazil; ²Federal University of Sao Carlos Sao Paulo - Brazil; ³Federal University of Goias, Goias - Brazil; ⁴Université Clermont Auvergne, Clermont Ferrand - France.

Correspondence author:

Ana Claudia Pelissari Kravchychyn. MSc. & Ana R. Dâmaso. PhD.

Post-Graduation Program of Nutrition. Paulista Medicine School – Universidade Federal de São Paulo. Rua Botucatu, 862 – Vila Clementino - São Paulo/ SP – Postal Code: 04024-002

Phone/FAX: (5511) Tel: (+55) 11 5576-4848. Brazil.

email: anapelissari@hotmail.com / ana.damaso@unifesp.br

Abstract

Introduction: Fibroblast growth factor 21 (FGF21) is among the activators that can stimulate thermogenesis in the white adipose tissue and brown adipose tissue. People with obesity have elevated blood levels of FGF21, but also develop resistance to its action, impairing its beneficial role. Inversely, clinical treatments to weight loss has been pointed out as an important therapy for increasing and recovering sensitivity to FGF21. The aim was to analyse the effect of long-term weight loss interdisciplinary intervention on FGF21 and body composition. **Methods:** 86 post-pubertal obese adolescents (14-19 years-old), were submitted to 20 weeks of weight loss therapy (clinical, nutritional, psychological and physical exercise support). Anthropometric measures, Body composition and Rest Metabolic Rate (RMR) by bioelectrical impedance, and serum FGF21 sample by ELISA were evaluated. The adolescents were grouped according to FGF21 individual delta variations after therapy: Higher Increase (HI); Lower Increase (LI); Lower Decrease (LD); Higher Decrease (HD). **Results:** All groups present weight loss. Only in FGF21 $\geq 76,5$ pg/mL variation the free-fat-mass and rest metabolic rate were preserved and to others group these variables were significantly reduced. **Conclusion:** High increase in FGF21 can contribute to preservation of FFM and RMR after weight loss therapy, could have important implications for energy balance regulation. Future studies are necessary to continue determining the role of magnitude effects of FGF21 levels in obesity to improve clinical practice, especially in paediatrics population.

Key-words: Body composition, obesity, adolescents, FGF21, weight loss, thermogenesis.

1. Introduction

The fibroblast growth factor 21 (FGF21) is among the activators that can stimulate thermogenesis in the white adipose tissue and brown adipose tissue (BAT), giving rise to beige cells through the Uncoupling Protein-1 activation, and consequently for mitochondrial biogenesis. Human stress conditions such as exercise, obesity, insulin resistance and diabetes can influence FGF21 serum levels and action (1,2,3).

People with obesity have elevated blood levels of FGF21 but also develop resistance to its action, impairing its beneficial action (2). In contrast, physical exercise has been pointed out as an important therapy for increasing and recovering sensitivity to FGF21 (2,4).

The direct relationship between BAT and muscle mass in this population of adolescents it has been elucidated, while high FGF21 levels observed in adolescents with obesity were positively correlated with liver and visceral fat levels (5). Further studies seem then necessary to assess the effects of weight loss (WL) interventions on FGF21 as a thermogenesis marker in adolescents with obesity. The aim of the present investigation was to analyse the effect of long-term WL interdisciplinary intervention on FGF21 and the relationship with body composition (BC) and individual variability of FGF21.

2. Methods

This study involved 86 obese adolescents of both genders, 14 to 19 years, post-pubertal Stage $\geq V$ (6) and body mass index (BMI) $>95^{\text{th}}$ percentile according World Health Organization curves. The non-inclusion criteria were: pregnancy, previous drug utilization, chronic alcohol consumption, viral hepatic diseases, other causes of liver steatosis, inability to perform physical activities. The study was conducted with Declaration of Helsinki and was approved by ethics committee (#0052/2016) and clinical trials (RBR-6txv3v).

2.1 Research design

The classical interdisciplinary therapy consisted of clinical assessment, exercise training, nutritional and psychological support for 20 weeks. The protocol also used a web-

based approach regarding different health education themes. The adolescents visited the endocrinologist to address their health conditions and determine sexual maturation at baseline and after therapy.

Six interdisciplinary clinical interventions were performed. They had low-calorie dietary prescriptions per age and a gender. The distribution of macronutrients was fat (25-35%), carbohydrate (45-65%) and protein (10-30%) (7). Every week different health themes were posted in online weight loss program with dietetics lessons educating (Example: low-calorie foods, diet and light foods, weight loss diets, good food choices on holidays, weekends and celebrations, food labels and other related topics).

Physical exercise was chosen by the self-guided method in which the adolescent opted for exercises related to personal pleasure (8). The choice was guided in all clinical approach by a professional in this area for frequency (three times/weekly) and duration (minimum of one hour/session) and were considered variables of body composition and basal metabolic rate to the choice of the modality to be practiced guaranteed benefits to the weight loss program (9). In the online program health themes, the volunteers had access to videos about correct mode of physical exercise practice including frequency, intensity and volume to help them in their choices.

The adolescents participated in group-based psychological sessions to help them deal with themes of depression, disturbances of body image and anxiety (10).

2.2 Anthropometric measurements, body composition and serum analysis

At baseline and after treatment, body mass (Filizola[®]) and height (Sanny[®]) were measured and BMI was calculated. BC was assessed using bioelectrical impedance (TBW[®]) providing Body Fat (BF), Free Fat Mass (FFM) and estimating Rest Metabolic Rate (RMR). Serum levels of FGF21 were measured with enzyme-linked immunosorbent assay.

2.3 Statistical analysis

Statistical analysis was performed using STATISTICA 13.0 software (StartSoft, Tulsa OK, USA). Statistical significance set at $p < 0.05$. Data normality was verified with the Kolmogorov–Smirnov test. Parametric data were expressed as mean $\pm$ SD while no-parametric variables were normalized by Zscore. Comparisons between measures at baseline and after by groups were made using ANOVA repeat measures with Turkey post-hoc.

3. Results

A total 56 patients completed the intervention and four groups were determinate according to median of variations (deltas) in FGF21 levels (pg/mL): Increase: $<76,5$ and $\geq 76,5$; Decrease: $<-64,1$ and $\geq -4,1$ (Figure 1).

All groups present weight loss. The BMI was significantly reduced only in the group with Increase FGF21 $\geq 76,5$ and BF reduced just in the group that presented Decreased FGF21 ≥ -64.1 . Considering FFM and RMR, exclusive in the group that Increased FGF21 $\geq 76,5$ these variables did not suffer significant reduction (Table 1).

Table 1. Descriptive data of body composition on different groups of FGF21 increased and decreased in obese adolescents submitted to multidisciplinary therapy.

	Increase FGF21					
	<76.5 pg/mL (n=13)			≥ 76.5 pg/mL (n=14)		
	Baseline	After	<i>p</i>	Baseline	After	<i>P</i>
Body weight (kg)	112.4 $\pm$ 20.7	105.7 $\pm$ 18.2 [†]	0.00	111.6 $\pm$ 12.8	107.0 $\pm$ 12.6 [†]	0.04
BMI (kg/m ²)	37.3 $\pm$ 5.3	34.9 $\pm$ 5.1	0.53	39.1 $\pm$ 4.4	37.9 $\pm$ 4.6 [†]	0.02
Body Fat (kg)	39.5 $\pm$ 10.2	35.0 $\pm$ 8.8	0.06	44.3 $\pm$ 7.1	41.2 $\pm$ 6.9	0.40
FFM (kg)	72.6 $\pm$ 13.4	70.7 $\pm$ 12.9 [†]	0.01	70.8 $\pm$ 9.3	69.8 $\pm$ 9.3	0.85
RMR (kcal)	2207.7 $\pm$ 407.1	2148.5 $\pm$ 391.1 [†]	0.00	2152.8 $\pm$ 284.5	2124.9 $\pm$ 281.7	0.88
FGF21	187.5 $\pm$ 143.3*	226.8 $\pm$ 137.9 [†]	0.01	97.9 $\pm$ 135.5*	271.4 $\pm$ 256.6 [†]	0.00
	Decrease FGF21					
	< -64.1 pg/mL (n=14)			≥ -64.1 pg/mL (n=14)		
	Baseline	After	<i>p</i>	Baseline	After	<i>P</i>
Body weight (kg)	107.2 $\pm$ 13.9	101.9 $\pm$ 13.5 [†]	0.00	112.9 $\pm$ 15.8	104.9 $\pm$ 14.9 [†]	0.00
BMI (kg/m ²)	37.5 $\pm$ 5.1	35.4 $\pm$ 5.3	0.91	39.5 $\pm$ 4.1	36.7 $\pm$ 3.8	0.25
Body Fat (kg)	40.2 $\pm$ 7.0	36.8 $\pm$ 6.6	0.28	45.2 $\pm$ 9.5	39.3 $\pm$ 7.7 [†]	0.00
FFM (kg)	66.9 $\pm$ 10.8	65.1 $\pm$ 10.1 [†]	0.00	67.7 $\pm$ 10.1	65.6 $\pm$ 10.2 [†]	0.00
RMR (kcal)	2034.8 $\pm$ 331.9	1979.6 $\pm$ 307.5 [†]	0.01	2059.3 $\pm$ 308.5	1989.7 $\pm$ 300.5 [†]	0.00
FGF21	183.9 $\pm$ 165.7*	152.7 $\pm$ 168.1	0.89	426.0 $\pm$ 261.0	182.0 $\pm$ 143.0 [†]	0.00

* $p < 0.05$ compared to Decrease FGF21 ≥ -64.1 ; $p < 0.05$ compared to baseline in the same group. FGF21 were expressed in pg/mL. Body Mass Index (BMI); Free Fat Mass (FFM); Rest Metabolic Rate (RMR).

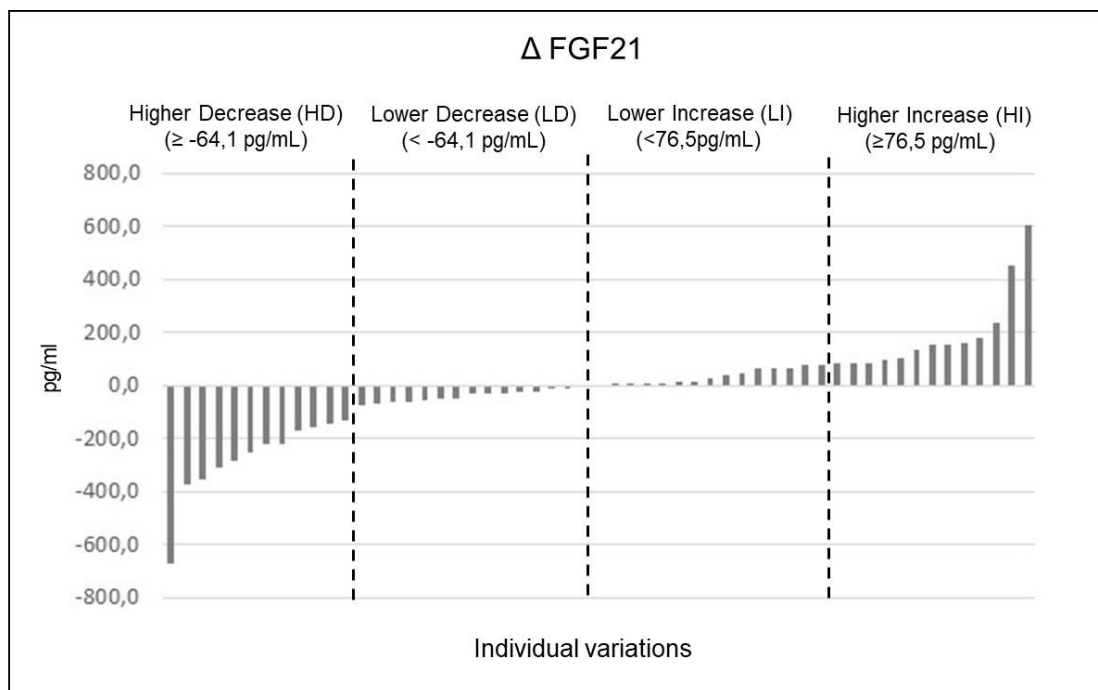


Figure 1. Individual variations of FGF21 serum levels after interdisciplinary therapy to weight loss. FGF21 were expressed in pg/mL. Lower Increase (LI) <76,5pg/mL FGF21 (n=13); Higher Increase (HI) ≥76,5 pg/mL FGF21 (n=14); Higher Decrease (HD) <-64,1 pg/mL FGF21 (n=14); and lower Decrease (LD) ≥-4,1 pg/mL FGF21 (n=14).

4. Discussion

The aim of the present investigation was to assess the individual variability of FGF21 concentration and its impact on BC in adolescents with obesity undergoing long-term interdisciplinary WL therapy. In this context, when analysing variation degrees, it was observed that in the group with increase FGF21 ≥ 76.5 seems to preserve the FFM and RMR compared to another groups.

The evidences questioning the anti-obesity effects of FGF21 in adolescent with obesity remains scarce, while an association between increased circulating FGF21 and metabolic disorders has been reported in adults. Cross-sectional studies conducted in adolescents with obesity showed controversial results regarding the associations between FGF21, BC, metabolic parameters and inflammatory profile (3,11,12,13).

Based on the present results, we can observe a broad variation of FGF21 levels at baseline and individual responses post treatment. Although weight and BF responses have

not been different between groups, the FFM and RMR did not reduce only in high increase degree of FGF21.

The FFM and RMR could have important implications for energy expenditure, energy balance regulation and WL maintenance in youth with obesity. In this way, the FFM and RMR preservation post WL treatment with high increase of FGF21 contributes to initial investigate relationship between these variables. In a large cohort, Li et al. (12) observed that lower FGF21 levels were negatively correlated with BMI and waist circumference and associated with obesity compared with normal-weight patients.

In addition, it has recently been demonstrated by our group positive correlation between FGF21 and lean body mass and HDL cholesterol in adolescents without insulin resistance, linking the potential effects of FGF21 with glucose metabolism (3). Markan (14) suggests that the role in increased circulating FGF21 during obesity remains uncertain and the translating rodent studies to man needs to be done with caution. Human FGF21 is proteolytically cleaved in vivo like this; the bioactivity of increased circulating FGF21 in humans remains unknown.

This study presents some limitations such as the small sample size post-treatment and lack of a lean control group. However, the present data seeks to understand the undersupply of studies that describe FGF21 in humans, especially in early ages.

5. Conclusion

The present study suggests that increase in FGF21 serum levels can contribute to preservation of FFM and RMR after interdisciplinary therapy to WL in adolescents with obesity. Future studies are necessary to continue determining the role of FGF21 levels in obesity to improve clinical practice, especially in paediatrics population.

Acknowledgements

FAPESP (2017/07372-1; 2015/14309-9; 2013/08522-6; 2011/50414-0; 2011/50356-0; 2008/53069-0), CNPq (301322/2017-1) and CAPES.

Conflict of Interest

None Disclosed

REFERENCES

- [1] Fisher FM, Kleiner S, Douris N, Fox EC, Mepani RJ, Verdeguer F, Wu J, Kharitonkov A, Flier JS, Maratos-Flier E, Spiegelman BM. FGF21 regulates PGC-1alpha and browning of white adipose tissues in adaptive thermogenesis. *Genes. Dev.* 2012;26(3):271-81.
- [2] Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. Modulation of energy balance by fibroblast growth factor 21. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2016;30(1):2-13.
- [3] Campos RMS, Oyama LM, Masquio DCL, Vicente SE, Corgosinho FC, Kravchychyn AC, Tock L, Tufik S, Mello MT, Dâmaso A. The role of insulin resistance on fgf-21 and inflammatory markers in obese adolescents undergoing multicomponent long-term weight loss therapy. *Eur. Med. J.* 2017;2:97-105.
- [4] Sanchez-Delgado G, Martinez-Tellez B, Olza J, Aguilera CM, Gil Á, Ruiz JR. Role of Exercise in the Activation of Brown Adipose Tissue. *Ann. Nutr. Metab.* 2015;67(1):21-32.
- [5] Pyrzak, B, Demkow U, Kucharska AM. 2015. Brown Adipose Tissue and Browning Agents: Irisin and FGF21 in the Development of Obesity in Children and Adolescents. Adv. Exp. Med. Biol. 2015;866:25-34.
- [6] Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch. Dis. Child.* 1976;51:170-179.
- [7] NCR. Dietary Reference Intake: Applications in Dietary Assessment. National Academic Press. Washington DC; 2001.

- [8] Marinilli Pinto A, Gorin AA, Raynor HA, Tate DF, Fava JL, Wing RR. Successful weight-loss maintenance in relation to method of weight loss. *Obesity*. 2008;16(11):2456-61.
- [9] Donnelly JE, Blair SN, Jakicic JM, Manore MM, Rankin JW, Smith BK. American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine Position Stand. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med. Sci. Sports. Exerc.* 2009;41:459-471.
- [10] de Carvalho-Ferreira JP, Masquio DC, da Silveira Campos RM, Dal Molin Netto B, Corgosinho FC, Sanches PL, Tock L, Tufik S, de Mello MT, Finlayson G, Damaso AR. Is there a role for leptin in the reduction of depression symptoms during weight loss therapy in obese adolescent girls and boys? *Peptides*. 2015;65: 20-28.
- [11] Bisgaard A, Sørensen K, Johannsen, TH, Helge JW, Andersson AM, Juul A. Significant gender difference in serum levels of fibroblast growth factor 21 in Danish children and adolescents. *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* 2014;7(1):2-6.
- [12] Li G, Yin J, Fu J, Li L, Grant SFA, Li C, Li M, Mi J, Li M, Gao S. FGF21 deficiency is associated with childhood obesity, insulin resistance and hypoadiponectinaemia: The BCAMS Study. *Diabetes. Metab.* 2017;43(3):253-260.
- [13] Giannini C, Feldstein AE, Santoro N, Kim G, Kursawe R, Pierpont B, Caprio S. Circulating levels of FGF-21 in obese youth: associations with liver fat content and markers of liver damage. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013;98(7):2993-3000.
- [14] Markan KR. Defining "FGF21 Resistance" during obesity: Controversy, criteria and unresolved questions. 2018. F1000Res. 7:289.